



Уральский  
федеральный  
университет

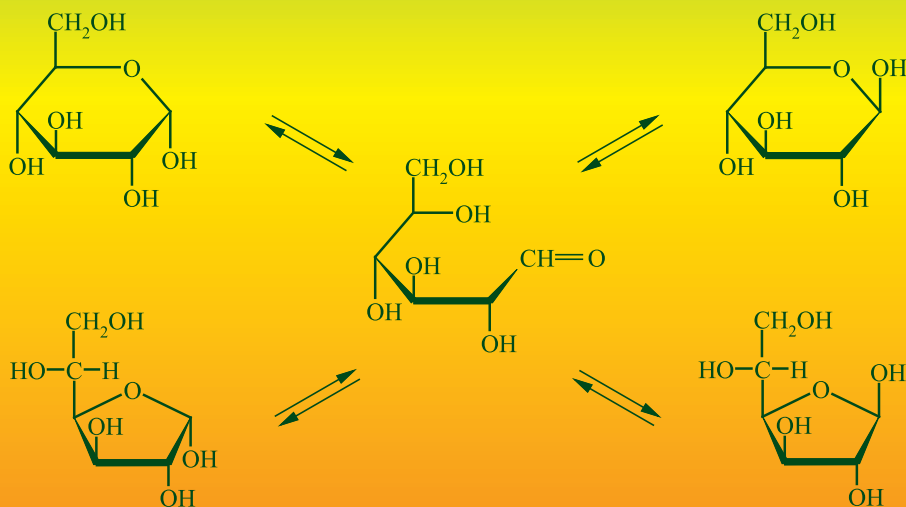
имени первого Президента  
России Б. Н. Ельцина

Химико-  
технологический  
институт

**В. В. ЕМЕЛЬЯНОВ**  
**Н. Е. МАКСИМОВА**  
**Н. Н. МОЧУЛЬСКАЯ**

# БИОХИМИЯ

Учебное пособие



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
УРАЛЬСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ ПЕРВОГО ПРЕЗИДЕНТА РОССИИ Б. Н. ЕЛЬЦИНА

В. В. Емельянов, Н. Е. Максимова, Н. Н. Мочульская

# БИОХИМИЯ

Рекомендовано методическим советом УрФУ  
в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся  
по программе бакалавриата по направлению подготовки  
12.03.04 «Биотехнические системы и технологии»

Екатеринбург  
Издательство Уральского университета  
2016

УДК 577(075.8)  
ББК 28.672я73-1  
Е601

Р е ц е н з е н т ы:  
лаборатория морфологии и биохимии  
Института иммунологии и физиологии УрО РАН  
(заведующий лабораторией доктор биологических наук, доцент И. Г. Данилова);  
В. А. Лукаш, кандидат биологических наук,  
старший преподаватель кафедры биохимии  
Уральского государственного медицинского университета  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Емельянов, В. В.**  
Е601 Биохимия : [учеб. пособие] / В. В. Емельянов, Н. Е. Максимова, Н. Н. Мочульская ; М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал. федер. ун-т. – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2016. – 132 с.  
ISBN 978-5-7996-1893-3

В учебном пособии изложены теоретические сведения по основным разделам биохимии: учение о ферментах (энзимология), основы биоэнергетики (биологическое окисление), обмен углеводов, липидов, белков и нуклеиновых кислот, регуляция и интеграция метаболизма, значение биохимических исследований для медицины. В пособие также включены вопросы для проверки усвоения материала, варианты письменных домашних заданий и тестового контроля.

Пособие предназначено для студентов нехимических специальностей, обучающихся по профилю «Биомедицинская инженерия».

УДК 577(075.8)  
ББК 28.672я73-1

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие .....	6
Раздел 1. ФЕРМЕНТЫ .....	7
1.1. Общая характеристика ферментов .....	7
1.2. Локализация ферментов в организме .....	8
1.3. Строение ферментов .....	9
1.3.1. Активный центр ферментов .....	10
1.3.2. Аллостерические центры ферментов .....	11
1.4. Изоферменты .....	11
1.5. Специфичность ферментов .....	13
1.6. Механизм действия ферментов .....	14
1.7. Основы кинетики ферментативных реакций .....	15
1.7.1. Зависимость скорости реакции от концентрации фермента .....	16
1.7.2. Влияние концентрации субстрата на скорость реакции .....	16
1.7.3. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры .....	19
1.7.4. Зависимость скорости ферментативной реакции от pH .....	19
1.8. Ингибирование активности ферментов .....	20
1.9. Классификация и номенклатура ферментов .....	21
Вопросы для проверки усвоения материала .....	24
Письменное домашнее задание .....	25
Типовой вариант тестового контроля по теме «Ферменты» .....	27
Раздел 2. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ .....	30
2.1. Этапы энергетического обмена .....	30
2.2. Цикл Кребса .....	32
2.2.1. Реакции ЦТК .....	32
2.2.2. Энергетический баланс одного оборота ЦТК .....	34
2.3. Тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование .....	35
2.3.1. Хемиосмотическая теория .....	36
2.3.2. Механизм окислительного фосфорилирования .....	37
2.4. Регуляция энергетического обмена .....	37
2.5. Другие пути использования кислорода .....	39
Вопросы для проверки усвоения материала .....	39
Письменное домашнее задание .....	41
Типовой вариант тестового контроля по теме «Биологическое окисление» .....	43
Раздел 3. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ .....	46
3.1. Биологическая роль углеводов .....	46
3.2. Переваривание и всасывание углеводов .....	46

3.3. Метаболизм глюкозы .....	47
3.3.1. Гликолиз .....	48
3.3.2. Расчет выхода АТФ при анаэробном окислении глюкозы .....	54
3.3.3. Расчет выхода АТФ при аэробном окислении .....	56
Вопросы для проверки усвоения материала .....	60
Письменное домашнее задание .....	60
Типовой вариант тестового контроля по теме «Обмен углеводов» .....	61
<b>Раздел 4. ОБМЕН ЛИПИДОВ .....</b>	<b>64</b>
4.1. Биологическая роль липидов .....	64
4.2. Переваривание липидов .....	65
4.3. Депонирование жиров .....	67
4.4. Окисление жирных кислот .....	67
4.5. Энергетический выход $\beta$ -окисления жирных кислот .....	70
4.6. Биосинтез жирных кислот .....	70
4.7. Биосинтез триглицеридов, фосфолипидов и холестерина .....	72
4.8. Синтез и распад кетонных тел .....	72
Вопросы для проверки усвоения материала .....	75
Письменное домашнее задание .....	75
Типовой вариант тестового контроля по теме «Обмен липидов» .....	76
<b>Раздел 5. ОБМЕН БЕЛКОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ .....</b>	<b>79</b>
5.1. Биологическая роль белков .....	79
5.2. Превращения белков и аминокислот в организме .....	79
5.3. Общие пути обмена аминокислот .....	81
5.4. Механизм токсического действия аммиака .....	86
5.5. Обезвреживание аммиака .....	87
5.5.1. Синтез мочевины .....	87
5.5.2. Синтез аммонийных солей .....	90
5.6. Судьба безазотистого остатка аминокислот .....	90
5.7. Биосинтез аминокислот .....	91
5.8. Переваривание и всасывание нуклеиновых кислот .....	93
5.9. Катаболизм пуриновых оснований .....	94
5.10. Катаболизм пиримидиновых оснований .....	96
5.11. Анаболизм нуклеотидов .....	98
5.11.1. Биосинтез пуриновых мононуклеотидов .....	99
5.11.2. Биосинтез пиримидиновых мононуклеотидов .....	100
5.11.3. Биосинтез нуклеозидтрифосфатов .....	101
5.11.4. Биосинтез дезоксирибонуклеотидов .....	102
5.12. Синтез нуклеиновых кислот .....	103
Вопросы для проверки усвоения материала .....	104
Письменное домашнее задание .....	104
Типовой вариант тестового контроля по теме «Обмен аминокислот, белков и нуклеиновых кислот» .....	105

Раздел 6. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА. БИОХИМИЯ КРОВИ .....	108
6.1. Регуляция метаболизма .....	108
6.1.1. Гормоны, определение понятия и свойства .....	108
6.1.2. Классификации гормонов .....	110
6.1.3. Этапы метаболизма гормонов .....	111
6.1.4. Рецепторы и механизм действия гормонов .....	112
6.2. Биохимия крови .....	114
Вопросы для проверки усвоения материала .....	117
Письменное домашнее задание .....	118
Типовой вариант тестового контроля по теме «Регуляция метаболизма. Биохимия крови» .....	118
Раздел 7. ИТОГОВОЕ КОНТРОЛЬНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ.	
ВОПРОСЫ К ЭКЗАМЕНУ ПО КУРСУ БИОХИМИИ .....	121
Типовой вариант итогового тестового контроля .....	121
Вопросы к экзамену по биохимии .....	125
Библиографические ссылки .....	130
Список рекомендуемой литературы .....	131

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Биохимия – фундаментальная наука, изучающая химический состав и свойства веществ, составляющих живые системы, их взаимопревращения в процессе метаболизма, а также роль обменных процессов в функционировании различных органов и тканей в норме и при патологии.

Преподавание курса биохимии будущим инженерам – специалистам в области разработки и обслуживания сложной медицинской техники – имеет своей целью формирование у них правильного понимания закономерностей функционирования живой природы. Однако в настоящее время учебной литературы, ориентированной на данную категорию студентов, недостаточно. Предлагаемое учебное пособие продолжает цикл учебных материалов по основам биохимии для студентов физико-технологического института.

*Вопросы для проверки усвоения материала* ориентируют студентов при самостоятельной работе с литературой. Второй формой самостоятельной работы является выполнение *письменного задания*, которое включает задачи для проверки усвоения материала. По каждой теме практических занятий разработан *тестовый контроль знаний*, который по усмотрению преподавателя может быть проведен как в режиме «входного» контроля, так и по окончании изучения темы. К каждой теме приведен типовой вариант тестового контроля.

## Раздел 1

# ФЕРМЕНТЫ

### 1.1. Общая характеристика ферментов

Ферменты – это специфические белки, которые действуют как катализаторы в биологических системах.

Являясь веществами белковой природы, ферменты обладают всеми свойствами белков:

- имеют несколько уровней организации макромолекул, подтвержденных данными рентгеноструктурного анализа;
- подобно растворимым белкам, образуют коллоидные растворы;
- дают положительные цветные реакции на белки;
- являются амфотерными соединениями;
- склонны к денатурации под влиянием тех же факторов: температуры, изменений pH, действия солей тяжелых металлов, физических факторов (ультразвук, ионизирующего излучения и т. д.):
- ферменты, как и белки, при гидролизе распадаются до аминокислот.

В отличие от других белков, ферменты обладают каталитической активностью. При этом, обладая свойствами, присущими неорганическим катализаторам, они существенно отличаются от них рядом свойств (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

#### Сходства и различия каталитического действия ферментов и неорганических катализаторов

Сходства	Различия
Ускоряют только термодинамически возможные реакции	Действуют в мягких условиях ( $t = 36-37\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
В случае обратимых реакций ускоряют и прямую и обратную реакции	Эффективность действия зависит от pH
Чувствительны к активаторам и ингибиторам	Термолабильность
Действуют в малых количествах	Высокая специфичность
	Действие ферментов в организме регулируется
	Широкий диапазон каталитического действия
	Высокая эффективность действия



Учение о ферментах выделено в самостоятельную науку – энзимологию. Термин «энзим» (от греч. *en zyme* – в дрожжах) так же, как и «фермент» (от лат. *fermentum* – закваска), означает процесс, связанный с выделением газов, брожением.

## 1.2. Локализация ферментов в организме

Ферменты по локализации и функциональности делят на три группы:

I – общие ферменты (универсальные);

II – органоспецифические;

III – органеллоспецифические.

Общие ферменты обнаруживаются практически во всех клетках, обеспечивая жизнедеятельность клетки, катализируя реакции биосинтеза белка, нуклеиновых кислот, образование биомембран и основных клеточных органелл, энергообмен. Общие ферменты разных тканей и органов, тем не менее, отличаются по активности.

Ферменты, свойственные только или преимущественно определенному органу или ткани, называются органоспецифическими. В печени – это аргиназа, ур-окиназа, гистидаза,  $\gamma$ -глутамилтрансфераза, аланинаминотрансфераза, сорбитол-дегидрогеназа. Органоспецифическим ферментом почек и костной ткани является щелочная фосфатаза, предстательной железы – кислая фосфатаза, поджелудочной –  $\alpha$ -амилаза и липаза.

Внутри клетки ферменты распределены также неравномерно. Одни ферменты находятся в коллоидно-растворенном состоянии в цитозоле, другие вмонтированы в клеточные органеллы (структурированное состояние). Разным органеллам клетки присущ специфический набор ферментов, которые определяют их функции:

- клеточная мембрана: щелочная фосфатаза, аденилатциклаза,  $K^+$ - $Na^+$ -АТФ-аза;
- цитоплазма: ферменты гликолиза, пентозного цикла;
- микросомы: ферменты, обеспечивающие гидроксилирование;
- рибосомы: ферменты, обеспечивающие синтез белка;
- лизосомы: гидролитические ферменты;
- митохондрии: ферменты цикла трикарбоновых кислот и окислительного фосфорилирования;
- ядро клетки: ферменты, обеспечивающие синтез РНК и ДНК;
- ядрышко: ДНК-зависимая РНК-полимераза.

В клетке существуют отсеки (компарменты), которые, отличаясь набором ферментов, отличаются и метаболизмом (компарментализация метаболизма).

Определение в плазме или сыворотке крови активности органо- или органеллоспецифических ферментов широко используется в клинической диагностике. Увеличение активности ферментов в плазме (сыворотке) крови связано прежде всего с цитолизом (т. е. повышением проницаемости биомембран или некрозом клетки) и выходом ферментов в кровяное русло. При этом активность ферментов в поврежденном органе уменьшается, а в плазме или сыворотке крови возрастает.

### 1.3. Строение ферментов

В природе существуют как простые, так и сложные ферменты. Первые целиком представлены полипептидными цепями и при гидролизе распадаются исключительно на аминокислоты. Большинство природных ферментов относятся к сложным белкам, содержащим, помимо полипептидных цепей, какой-либо небелковый компонент – кофермент или кофактор. В литературе существуют различные трактовки этих терминов. Мы придерживаемся точки зрения, согласно которой кофермент – небелковая часть сложного фермента, являющаяся органическим веществом, кофактор – неорганическим.

Кофакторами чаще всего служат ионы металлов: железа, меди, цинка и др. Кофакторы необходимы для проявления каталитической активности многих ферментов.

Многие коферменты являются производными водорастворимых витаминов (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

**Коферменты, производные витаминов**

Витамины	Коферменты
РР (никотиновая кислота)	НАД <sup>+</sup> , НАДФ
В2 (рибофлавин)	ФАД, ФМН
В6 (пиридоксаль)	Пиридоксальфосфат
В1 (тиамин)	Тиаминпирофосфат
В9 (фолиевая кислота)	Тетрагидрофолиевая кислота
В12 (цианокобаламин)	Кобаламины

Можно выделить три группы коферментов:

– принимающие участие в окислительно-восстановительных реакциях: (НАД<sup>+</sup>/НАДН<sub>2</sub>, НАДФ<sup>+</sup>/НАДФН<sub>2</sub>, ФАД/ФАДН<sub>2</sub>, КоQ);

– принимающие участие в переносе атомных групп: пиридоксальфосфат (перенос аминогрупп), биотин (перенос диоксида углерода), тетрагидрофолиевая кислота (перенос метильных и других одноуглеродных групп);

– принимающие участие в реакциях синтеза, изомеризации и расщепления: тиаминпирофосфат (декарбоксилирование кетокислот), коэнзим А (для активации жирных кислот).

Некоторые коферменты (ФМН, ФАД, пиридоксальфосфат) стабильно связаны с ферментом, и их можно рассматривать как часть активного центра. Другие коферменты (НАД<sup>+</sup>, НАДФ<sup>+</sup>, КоА) в условиях живой клетки связываются с активным центром только в момент реакции. В этом они сходны с субстратами ферментов. Если в ходе реакции кофермент претерпевает химические изменения, прямо

противоположные происходящим в субстрате, то такие коферменты можно рассматривать как второй субстрат или косубстрат. Более того, иногда именно превращения кофермента имеют физиологическое значение, например, образование НАДН<sub>2</sub> в ЦТК и его окисление в дыхательной цепи.

### 1.3.1. Активный центр ферментов

Ферменты характеризуются наличием специфических центров катализа. Активный центр – это часть молекулы фермента, которая специфически взаимодействует с субстратом и принимает непосредственное участие в катализе. Активный центр, как правило, находится не на поверхности молекулы фермента, а в узком гидрофобном углублении (нише), что способствует созданию высокой концентрации субстрата (рис. 1). Активные центры ферментов формируются на уровне третичной структуры. Любые воздействия, приводящие к денатурации, т. е. нарушению третичной структуры, приводят к разрушению структуры активного центра и, соответственно, к потере ферментом каталитических свойств.

В активном центре условно можно выделить два участка: субстратсвязывающий участок (контактная площадка), который обеспечивает специфическое комплементарное связывание субстрата, и собственно каталитический центр, непосредственно вступающий в химическое взаимодействие с субстратом. В активный центр фермента часто входит участок для связывания кофактора.

Большинство субстратов соединяется с активным центром в нескольких точках. Благодаря этому молекула субстрата связывается с активным центром единственно возможным способом, что обеспечивает избирательность дальнейших химических превращений.

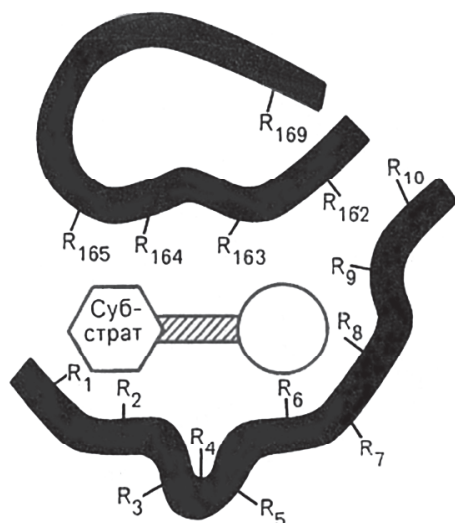


Рис. 1. Активный центр фермента (схема по Малеру и Кордесу):

темные полосы – участки полипептидной цепи фермента; R – аминокислотные остатки и их порядковые номера (с N-конца) [см.: 1, с. 123]

### 1.3.2. Аллостерические центры ферментов

У группы регуляторных ферментов помимо активного центра, в молекуле фермента может присутствовать также аллостерический центр или центры (от греч. *allos* – другой и *steros* – пространственный, структурный), которые находятся за пределами активного центра. К аллостерическому центру могут присоединяться молекулы модуляторов (активаторов или ингибиторов), регулирующие активность ферментов. Присоединение модулятора к аллостерическому центру изменяет конформацию молекулы фермента и, соответственно, конфигурацию активного центра, вызывая повышение или снижение активности фермента (рис. 2).

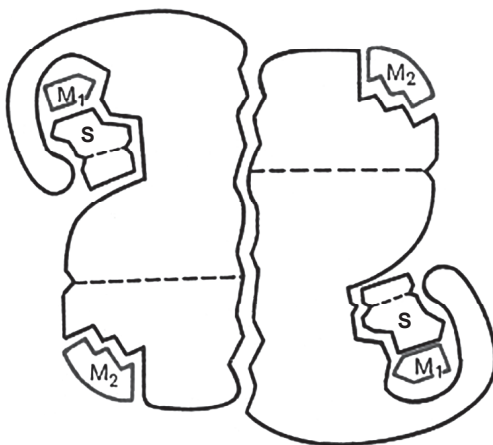


Рис. 2. Схематическое изображение аллостерического фермента, состоящего из двух протомеров:

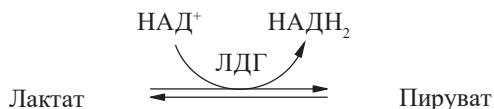
S – субстрат;  $M_1$  – модификатор, связывающийся в активном центре;  $M_2$  – эффектор, связывающийся в аллостерическом центре [см.: 1, с. 126]

Аллостерические центры известны далеко не у каждого фермента. Обычно они присущи ферментам, обладающим четвертичной структурой, которые легче поддаются весомым конформационным перестройкам. У фермента может быть несколько разных аллостерических центров. Благодаря их избирательности, активность фермента по-разному меняется под действием различных модуляторов.

### 1.4. Изоферменты

Изоферменты – это множественные формы фермента, катализирующие одни и те же реакции, но отличающиеся по физическим и химическим свойствам (сродство к субстрату, скорость катализируемой реакции, электрофоретическая подвижность, различная чувствительность к ингибиторам и активаторам, термостабильность, оптимум pH).

В качестве примера можно рассмотреть лактатдегидрогеназу (ЛДГ) – фермент, катализирующий обратимую реакцию:



Этот фермент существует в виде 5 изоформ, каждая из которых состоит из 4 протомеров (субъединиц) двух типов (М и Н). Изоферменты ЛДГ различаются на уровне четвертичной структуры: ЛДГ<sub>1</sub> – 4Н; ЛДГ<sub>2</sub> – 3Н1М; ЛДГ<sub>3</sub> – 2Н2М; ЛДГ<sub>4</sub> – 1Н3М; ЛДГ<sub>5</sub> – 4М. Полипептидные цепи Н- и М-типа имеют одинаковую молекулярную массу, но в составе первых преобладают дикарбоновые аминокислоты, последних – диаминокислоты, поэтому они несут разный заряд и могут быть разделены методом электрофореза. Обозначение изоформ принято в соответствии с их подвижностью к аноду (рис. 3).

В процессе индивидуального развития организма происходит изменение содержания изоформ в той или иной ткани. У зародыша преобладают ЛДГ<sub>4</sub> и ЛДГ<sub>5</sub>. После рождения происходит изменение содержания изоформ в некоторых тканях. В миокарде, надпочечниках, где доминирует аэробный обмен, преобладают ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub>. В тканях, где сохранился анаэробный обмен, преобладают ЛДГ<sub>4</sub> и ЛДГ<sub>5</sub> (скелетная мускулатура, печень).



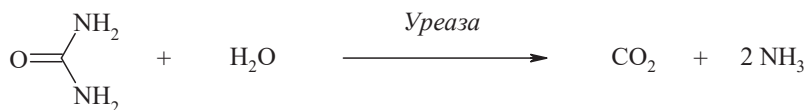
Рис. 3. Распределение и относительные количества изоферментов ЛДГ в различных органах. Экстракты нанесены на линию, отмеченную надписью «Старт». При заданных условиях опыта (рН 4) 4 изофермента ЛДГ движутся к аноду, а один (ЛДГ<sub>5</sub>) – к катоду [см.: 1, с. 128]

Существование изоформ повышает адаптационную возможность тканей, органов и организма в целом к меняющимся условиям. Определение изоферментного спектра плазмы крови ЛДГ имеет клинко-диагностическое значение для дифференциальной диагностики: при инфаркте миокарда преобладают ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub>, а при заболеваниях печени – ЛДГ<sub>4</sub> и ЛДГ<sub>5</sub>.

## 1.5. Специфичность ферментов

В отличие от неорганических катализаторов ферменты характеризуются специфичностью действия. Специфичность действия фермента определяется структурой активного центра.

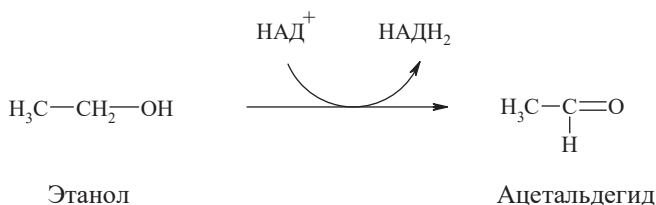
Фермент может обладать чрезвычайно высокой избирательностью по отношению к субстрату. Например, фермент уреаза распознает только одно вещество – мочевины, катализируя ее расщепление до  $\text{CO}_2$  и аммиака:



Мочевина

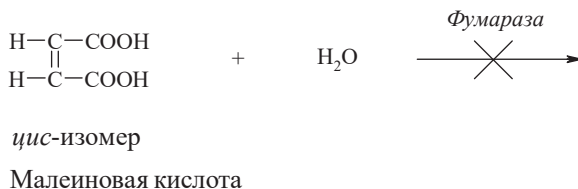
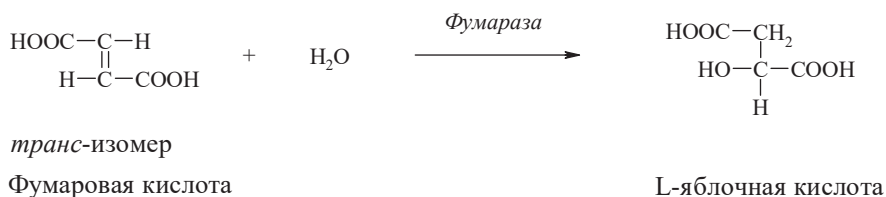
Если фермент катализирует превращение определенного единственного субстрата, такая специфичность называется абсолютной субстратной специфичностью. Однако встречается она редко.

Обычно субстратная специфичность бывает относительной (групповой). Это означает, что фермент способен ускорять однотипную реакцию у группы сходных по строению веществ. Например, алкогольдегидрогеназа катализирует окисление не только этанола, но и других алифатических спиртов:



К числу ферментов с групповой специфичностью относятся пищеварительные ферменты. Так, пепсин, относящийся к протеазам, расщепляет пептидные связи в белках как животного, так и растительного происхождения, отличающихся по аминокислотному составу. Основным местом действия пепсина является пептидная связь  $-\text{CO}-\text{NH}-$ . Липазы, расщепляющие сложноэфирные связи, катализируют гидролиз жиров на глицерин и жирные кислоты, но не действуют на пептидные связи.

Стереохимическая специфичность обусловлена существованием оптически изомерных *L*- и *D*-форм или геометрических изомеров химических веществ. Например, фермент фумараза катализирует превращение фумаровой кислоты (*транс*-изомер), но не действует на малеиновую кислоту (*цис*-изомер):



Большинство ферментов, участвующих в превращениях аминокислот, действуют лишь на *L*-изомеры, а ферменты, катализирующие превращения углеводов – на *D*-изомеры углеводов.

Таким образом, благодаря специфичности действия, ферменты обеспечивают протекание с высокой скоростью лишь определенных реакций из огромного разнообразия возможных превращений в микропространстве клеток и целостном организме, регулируя тем самым интенсивность обмена веществ.

## 1.6. Механизм действия ферментов

Любая ферментативная реакция включает несколько промежуточных этапов (рис. 4):

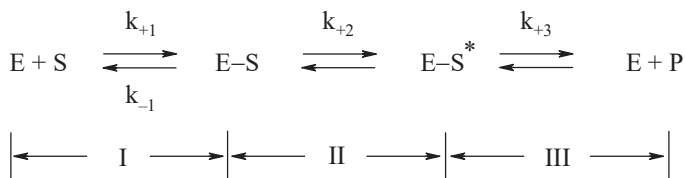


Рис. 4. Основные этапы ферментативного катализа

Этап I – сорбция субстрата (S) субстратсвязывающим участком активного центра фермента (E) с образованием ферментсубстратного комплекса (E-S). Этот этап реализуется за счет образования слабых невалентных взаимодействий, поэтому полностью обратим. Конформационные изменения в процессе сорбции усиливают пространственное соответствие активного центра и субстрата.

Этап II – ковалентное преобразование субстрата в составе ферментсубстратного комплекса, в результате чего появляется комплекс с химически измененным субстратом (E-S\*). В этом этапе участвует собственно каталитический центр, который обеспечивает разрыв одних и формирование других химических связей.

Поэтому данный этап необратим, за исключением собственно обратимых реакций. Необходимость ковалентных превращений делает этап II самой медленной стадией, лимитирующей скорость всего ферментативного процесса.

Этап III – десорбция готового продукта реакции (P) из комплекса E-S\*, которая сопровождается освобождением фермента в его исходном виде. Этот этап, как и этап II, является необратимым (за исключением катализа обратимых реакций).

## 1.7. Основы кинетики ферментативных реакций

Кинетика изучает влияние различных факторов на скорость реакции. Общие принципы кинетики химических реакций применимы и к ферментативным реакциям. Скорость ферментативной реакции измеряют по убыли субстрата или приросту продукта реакции за единицу времени. Принято измерять начальную скорость реакции, чтобы свести к минимуму влияние таких факторов, как уменьшение концентрации субстрата, обратимость реакции, образование продуктов, тормозящих реакцию. В качестве единиц скорости реакции используют моль/с или мкмоль/мин.

Интервал времени, в течение которого скорость реакции равна начальной скорости или близка к ней, соответствует прямолинейному участку графика зависимости скорости реакции от времени (рис. 5).

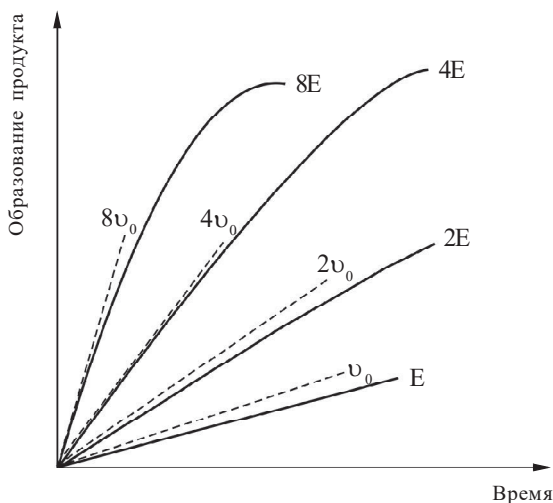


Рис. 5. Зависимость скорости ферментативной реакции от времени. Начальная скорость ( $v_0$ ) увеличивается пропорционально концентрации фермента (E)

Эксперименты *in vitro* позволяют исследовать ферментативную реакцию, варьируя тот или иной параметр при соблюдении постоянства остальных.



### 1.7.1. Зависимость скорости реакции от концентрации фермента

Зависимость скорости реакции от концентрации фермента изучают, варьируя количество фермента при достаточно высокой концентрации субстрата. В этих условиях скорость реакции в интервале времени, соответствующем начальной скорости реакции, прямо пропорциональна концентрации фермента в реакционной смеси (рис. 6).

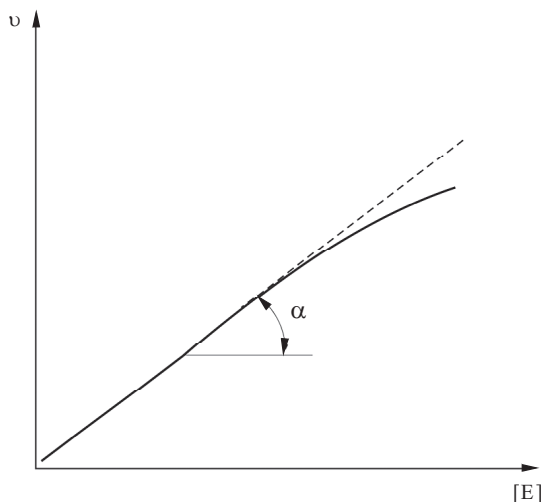


Рис. 6. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента  $[E]$  при достаточно высокой концентрации субстрата

Разделив скорость реакции, измеренную на линейном участке, на концентрацию фермента в реакционной смеси, получают параметр — активность фермента. Активность фермента — это скорость ферментативной реакции, отнесенная к концентрации фермента. По сути, это — тангенс угла наклона линейного участка к оси абсцисс. Ферменты могут находиться в разном функциональном состоянии, поэтому параметры «активность фермента» и «количество фермента» могут не совпадать. Активность фермента характеризует не количество, а эффективность фермента.

Для оценки количества фермента Международная система единиц (СИ) рекомендует единицу «катал». Катал — это такое количество фермента, которое преобразует 1 моль субстрата за 1 с.

Для биологических объектов данная единица измерения чрезмерно велика, поэтому используют единицу нанокатал. Обычно применяют более удобную международную единицу (МЕ). МЕ — это количество фермента, которое преобразует 1 мкмоль субстрата за 1 мин.

### 1.7.2. Влияние концентрации субстрата на скорость реакции

Влияние концентрации субстрата можно исследовать путем измерения скорости реакции в серии проб с постоянной концентрацией фермента, но возрастающей концентрацией субстрата.

График зависимости скорости ферментативной реакции ( $v$ ) от концентрации субстрата при фиксированной концентрации фермента представляет собой гиперболу (рис. 7).

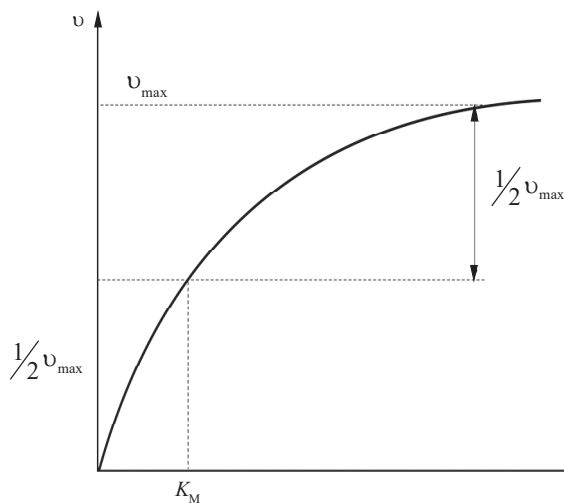


Рис. 7. Зависимость скорости реакции ферментативной реакции от концентрации субстрата при постоянной концентрации фермента

Вначале скорость реакции прямо пропорциональна концентрации субстрата, при ее дальнейшем увеличении скорость реакции постепенно достигает максимального значения. Это означает, что все связывающие участки фермента заняты (насыщены). Скорость реакции на этом участке не зависит от концентрации субстрата. Такую кривую называют кривой субстратного насыщения.

Уравнение, описывающее кривую субстратного насыщения, было предложено Михаэлисом и Ментен и носит их имена (уравнение Михаэлиса – Ментен):

$$v = \frac{v_{\max} \cdot [S]}{K_M + [S]},$$

где  $[S]$  – концентрация субстрата;

$v$  – скорость реакции при данной концентрации субстрата;

$K_M$  – константа Михаэлиса.

$v_{\max}$  и  $K_M$  – главные кинетические константы, характеризующие фермент в его реакции с данным субстратом.

Легко рассчитать, если  $v = 1/2 v_{\max}$ , то  $K_M = [S]$ , т. е.  $K_M$  – это концентрация субстрата, при которой скорость реакции составляет  $1/2 v_{\max}$ . Константу Михаэлиса можно вычислить по графику. Отрезок на абсциссе, соответствующий скорости, равной половине максимальной, представляет собой  $K_M$ .

$v_{\max}$  – максимальная скорость данной ферментативной реакции, т. е. предельное значение, к которому стремится скорость реакции при бесконечно большом увеличении концентрации субстрата.

С целью упрощения определения величины  $v_{\max}$  и  $K_M$  уравнение Михаэлиса – Ментен можно линеаризовать:

$$1/v = K_M + [S]/v_{\max} \cdot [S],$$

$$1/v = K_M/v_{\max} \cdot [S] + 1/v_{\max}.$$

$$1/v = K_M/v_{\max} \cdot 1/[S] + 1/v_{\max} \text{ – уравнение Лайнуивера – Берка.}$$

Уравнение, описывающее график Лайнуивера – Берка, – это уравнение прямой линии  $y = kx + b$ , где  $1/v_{\max}$  – это отрезок, отсекаемый прямой на оси ординат;  $K_M/v_{\max}$  – тангенс угла наклона прямой; пересечение прямой с осью абсцисс дает величину  $1/K_M$  (рис. 8). График Лайнуивера – Берка позволяет определить  $K_M$  по относительно небольшому числу точек. Этот график также используют при оценке действия ингибиторов.

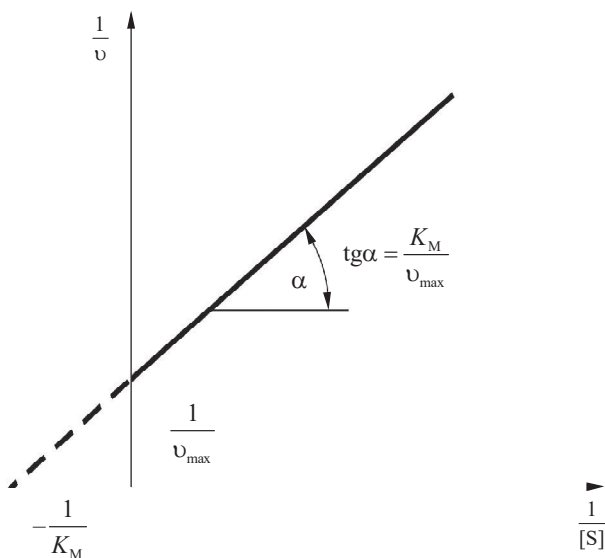


Рис. 8. График Лайнуивера – Берка

Значения  $K_M$  изменяются в широких пределах: от  $10^{-6}$  моль/л для очень активных ферментов до  $10^{-2}$  моль/л для малоактивных ферментов. Оценки  $K_M$  имеют практическое значение. При концентрациях субстрата, в 100 раз превышающих  $K_M$ , фермент будет работать практически с максимальной эффективностью, поэтому  $v_{\max}$  будет отражать количество присутствующего активного фермента. Это обстоятельство используют для оценки содержания фермента в препарате. Кроме того,  $K_M$  является характеристикой фермента.

### 1.7.3. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры

Ферменты, вещества белковой природы, проявляют максимальную активность в ограниченном температурном интервале (рис. 9). При температурах до 40–50 °С скорость реакции увеличивается согласно теории химической кинетики, т. е. в соответствии с правилом Вант-Гоффа возрастает примерно в 2 раза. При более высоких температурах тепловая денатурация приводит к уменьшению количества активного фермента и в конечном итоге – к полному прекращению ферментативной реакции. Термолабильность отличает ферменты от неорганических катализаторов.

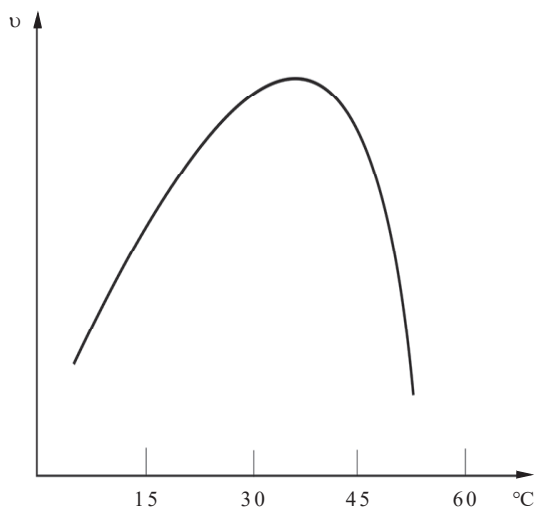


Рис. 9. Зависимость скорости ферментативной реакции ( $v$ ) от температуры среды

### 1.7.4. Зависимость скорости ферментативной реакции от pH

Оптимум pH действия большинства ферментов лежит в пределах физиологических значений 6,0–8,0. Пепсин активен при pH 1,5–2,0, что соответствует кислотности желудочного сока. Аргиназа, специфический фермент печени, активен при 10,0. Влияние pH среды на скорость ферментативной реакции связывают с состоянием и степенью ионизации ионогенных групп в молекуле фермента и субстрата (рис. 10). Этот фактор определяет конформацию белка, состояние активного центра и субстрата, формирование фермент-субстратного комплекса, собственно процесс катализа.

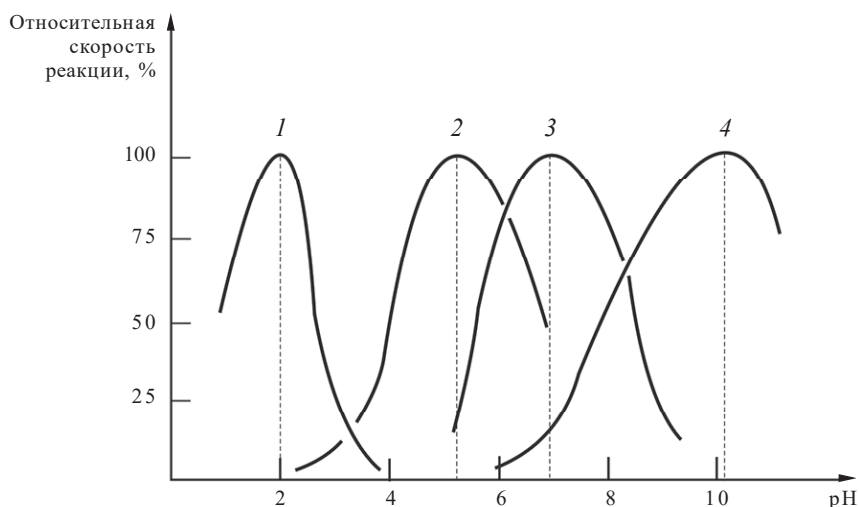


Рис. 10. Влияние pH среды на скорость ферментативной реакции:

1 – пепсин; 2 – лизоцим; 3 – амилаза слюны; 4 – аргиназа

## 1.8. Ингибирование активности ферментов

Важной особенностью ферментов является их инактивация под влиянием определенных ингибиторов. Ингибиторы – это вещества, вызывающие частичное или полное торможение ферментативных реакций. Ингибирование ферментативной активности может быть необратимым или обратимым, конкурентным или неконкурентным.

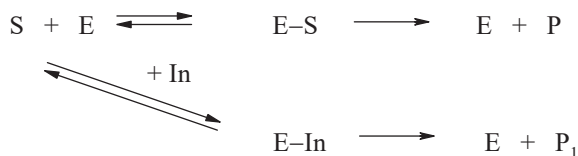
Необратимое ингибирование – это стойкая инактивация фермента, возникающая в результате ковалентного связывания молекулы ингибитора в активном центре или в другом особом центре, изменяющем конформацию фермента. Диссоциация столь устойчивых комплексов с регенерацией свободного фермента практически исключена. Для преодоления последствий такого ингибирования организм должен синтезировать новые молекулы фермента.

Обратимое ингибирование характеризуется равновесным комплексообразованием ингибитора с ферментом за счет нековалентных связей, вследствие чего такие комплексы способны к диссоциации с восстановлением активности фермента.

Классификация ингибиторов на конкурентные и неконкурентные основана на том, что ослабляется (конкурентное ингибирование) или не ослабляется (неконкурентное ингибирование) их действие при повышении концентрации субстрата.

Конкурентные ингибиторы – это, как правило, вещества, структура которых сходна со структурой субстрата. Данное обстоятельство позволяет им связываться в том же активном центре, что и субстрат, препятствуя взаимодействию фермента с субстратом уже на стадии связывания. После связывания ингибитор может быть превращен в некий продукт или остается в активном центре, пока не произойдет диссоциация.

Обратимое конкурентное ингибирование можно представить в виде схемы:



Степень ингибирования фермента определяется соотношением концентраций субстрата и ингибитора. Классическим примером подобного типа ингибирования является торможение активности фермента сукцинатдегидрогеназы малонатом, который вытесняет сукцинат из субстратного участка и препятствует его превращению в фумарат.

При необратимом ингибировании имеет место ковалентное связывание ингибитора в активном центре. Примером необратимого ингибирования может служить инактивация фермента триозофосфатизомеразы трихлорацетолфосфатом. Этот ингибитор является структурным аналогом субстрата – диоксиацетонфосфата и необратимо присоединяется к остатку глутаминовой кислоты в активном центре.

## 1.9. Классификация и номенклатура ферментов

Современные классификация и номенклатура ферментов были разработаны Комиссией по ферментам Международного биохимического союза, учрежденной в 1956 г., и утверждены на V Международном биохимическом конгрессе в 1961 г. в Москве (табл. 3). Эта классификация и номенклатура действуют и поныне, пополняясь вновь открываемыми ферментами.

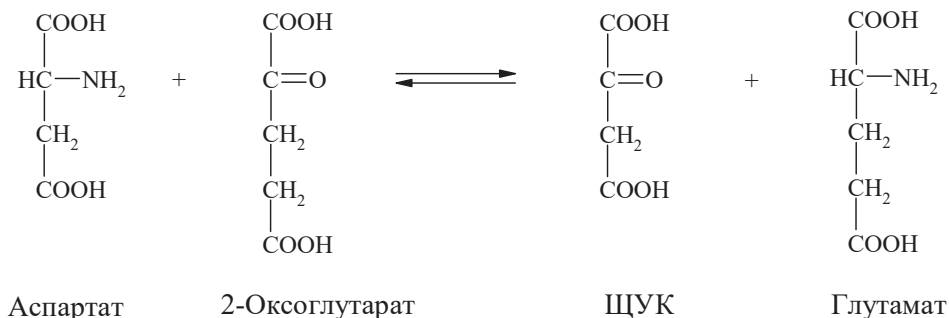
Т а б л и ц а 3

Международная классификация ферментов

№ п/п	Класс	Тип катализируемой реакции
1	Оксидоредуктазы	Окисление – восстановление (перенос электронов и протонов)
2	Трансферазы	Межмолекулярный перенос групп атомов, отличных от атомов водорода
3	Гидролазы	Гидролиз различных связей (с участием молекулы воды)
4	Лиазы	Расщепление связей углерода с кислородом, азотом, серой или другим углеродом без участия молекул воды
5	Изомеразы	Внутримолекулярный перенос групп с образованием изомерных форм
6	Лигаза (синтетаза)	Соединение двух молекул и образование связей C–C, C–O, C–S и C–N, сопряженное с разрывом макроэргической связи (АТФ или его аналогов)



П р и м е р:



Научное название фермента: аспартат: 2-оксоглутаратаминотрансфераза.

Рабочее название: аспартатаминотрансфераза.

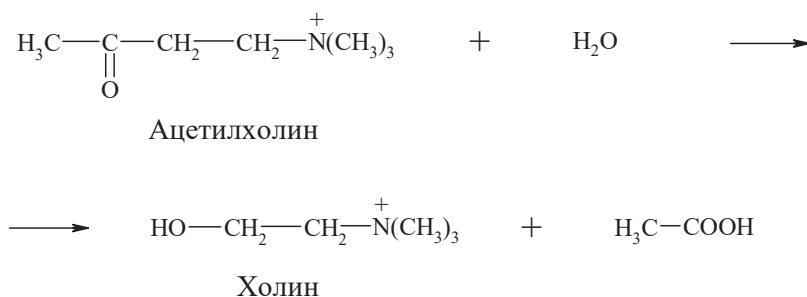
3. *Гидролазы* – ускоряют реакции гидролитического расщепления. Подкласс указывает на природу расщепляемой связи:

- эстеразы (расщепляют сложноэфирную связь);
- гликозидазы (расщепляют гликозидную связь);
- пептидазы (гидролизуют пептидную связь).

Научное название фермента: название субстрата: отщепляемая группа + название класса.

Рабочее название: название субстрата с окончанием *-аза*.

П р и м е р:



Научное название фермента: ацетилхолин-ацетилгидролаза.

Рабочее название: ацетилхолинэстераза.

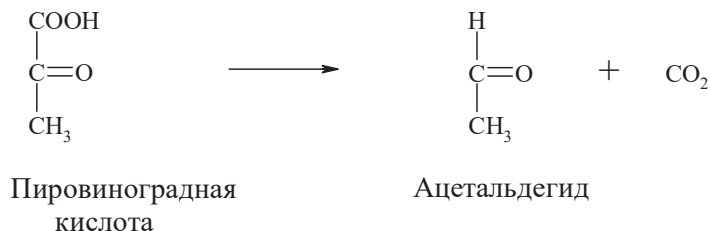
4. *Лиазы*. К классу лиаз относят ферменты, катализирующие разрыв связей C–O, C–C, C–N и др., а также обратимые реакции отщепления различных групп от субстратов негидролитическим путем. Эти реакции сопровождаются образованием двойной связи или присоединением групп к месту разрыва двойной связи.

Научное название фермента: название субстрата: отщепляемая группа + название класса.

Рабочее название: название субстрата + класс.



П р и м е р:



Научное название: пируваткарбоксилаза.

Рабочее название: пируватдекарбоксилаза.

5. *Изомеразы*. К данному классу относят ферменты, катализирующие взаимопревращения изомеров. Исходя из типа катализируемой реакции, выделяют пять подклассов:

- рацемазы и эпимеразы (катализируют взаимопревращение оптических изомеров);
- *цис-транс*-изомеразы (катализируют взаимопревращение геометрических изомеров);
- внутримолекулярные оксидоредуктазы;
- внутримолекулярные трансферазы (мутазы);
- внутримолекулярные лиазы.

6. *Лигазы (синтетазы)*. К классу лигаз относят ферменты, катализирующие синтез органических веществ из двух исходных молекул с использованием энергии распада АТФ (или другого нуклеозидтрифосфата). Систематическое название их составляют по форме «X : Y лигаза», где X и Y обозначают исходные вещества. В качестве примера можно назвать *L*-глутамат: аммиак лигазу (рекомендуемое сокращенное название «глутаминсинтетаза»), при участии которой из глутаминовой кислоты и аммиака в присутствии АТФ синтезируется глутамин.

## Вопросы для проверки усвоения материала

1. Ферменты: определение, значение в живых системах. Строение ферментов: активный центр, аллостерический центр, их функции.
2. Коферменты и кофакторы, химическая природа и функции. Роль витаминов в проявлении каталитической активности ферментов. Сравнительная характеристика ферментов и небиологических катализаторов.
3. Механизм ферментативного катализа.
4. Международная классификация и номенклатура ферментов: принцип построения, шифры ферментов. Характеристика классов ферментов (оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы).
5. Регуляция активности ферментов. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента, субстрата, температуры и pH среды. Уравнения

Михаэлиса – Ментен и Лайнуивера – Берка, константа Михаэлиса, кривая субстратного насыщения. Конкурентные и аллостерические модуляторы.

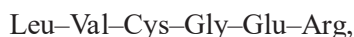
6. Локализация ферментов в клетке. Ферменты клеточных органелл (ядро, митохондрии, рибосомы, лизосомы, аппарат Гольджи, эндоплазматическая сеть, цитоскелет, клеточный центр).

## Письменное домашнее задание

### Обязательное

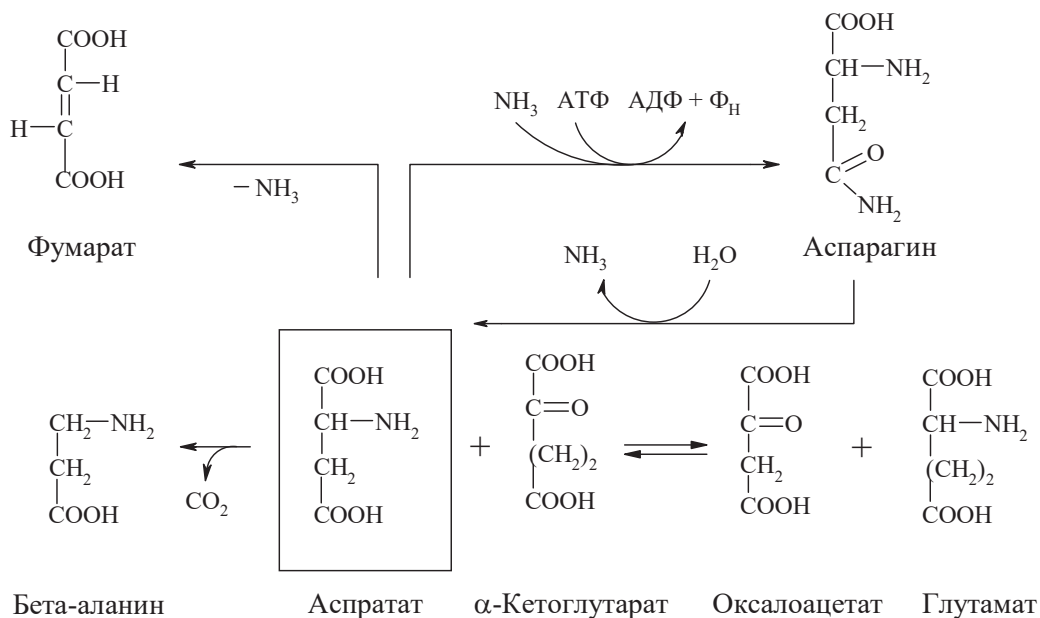
1. Составьте структурную формулу трипептида  $H_2N\text{-Val-Cys-Asp-COOH}$  и определите, в какой области pH находится его изоэлектрическая точка.

2. При формировании третичной структуры гормона инсулина оказываются пространственно сближенными следующие фрагменты полипептидной цепи:



Какие типы связей между боковыми радикалами аминокислот могут при этом образоваться?

3. На схеме представлено 5 химических реакций, протекающих в организме, в которых принимают участие аспарагиновая кислота (аспарат) и аспарагин.



Запишите уравнения реакций, укажите классы катализирующих их ферментов и дайте название каждому ферменту по систематической номенклатуре.

4. Фермент дипептидаза из слизистой оболочки тонкой кишки катализирует реакцию гидролиза дипептида глицилглицина. В следующей таблице представле-

на зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата в отсутствие и в присутствии модулятора – трасилола:

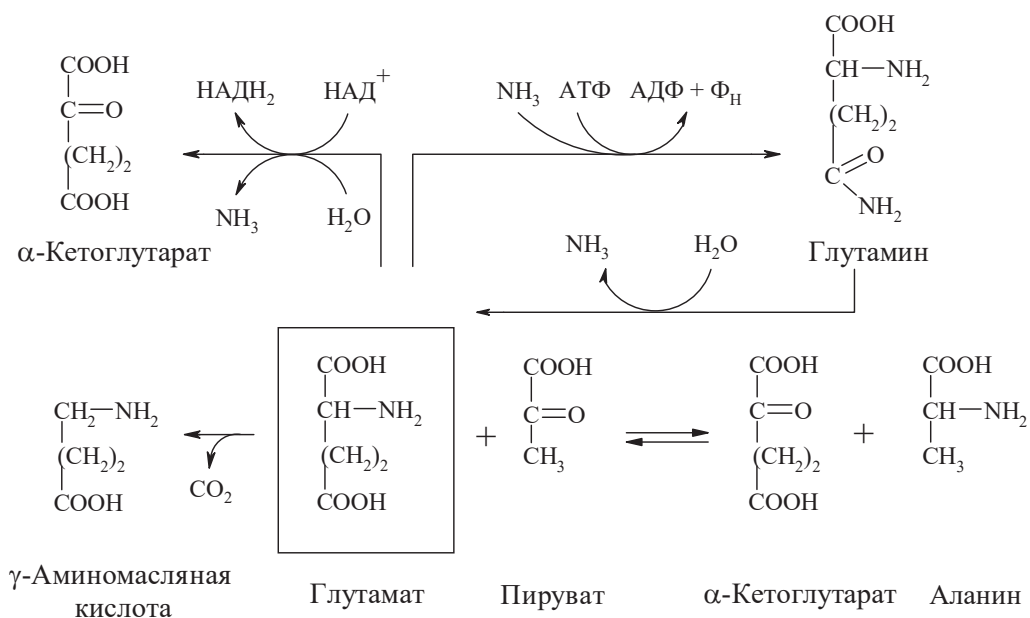
Концентрация субстрата, ммоль/л	Скорость реакции, ммоль/с	
	В отсутствие трасилола	В присутствии трасилола
0,1	0,33	0,06
0,5	1,00	0,28
1,0	1,33	0,50
2,0	1,6	0,80
4,0	1,78	1,14
8,0	1,88	1,45

Задание:

- напишите уравнение реакции гидролиза дипептида;
- постройте график зависимости скорости реакции от концентрации субстрата в обоих случаях в координатах Михаэлиса – Ментен и Лайнуивера – Берка;
- определите максимальную скорость реакции и константу Михаэлиса;
- какой вид модуляции активности фермента имеет место в данном случае?
- с каким участком молекулы фермента связывается модулятор?

Д о п о л н и т е л ь н о е

1. На схеме представлено 5 химических реакций, протекающих в организме, в которых принимают участие глутаминовая кислота и глутамин.



Запишите уравнения реакций, укажите классы катализирующих их ферментов и дайте название каждому ферменту по систематической номенклатуре.

2. Фермент фосфофруктокиназа катализирует реакцию превращения фруктозо-6-фосфата во фруктозо-1,6-дифосфат. В таблице представлена зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фруктозо-6-фосфата в отсутствие и в присутствии модулятора – цитрата (лимонной кислоты):

Концентрация фруктозо-6-фосфата, мкмоль/л	Скорость реакции, мкмоль/с	
	В отсутствие цитрата	В присутствии цитрата
0,5	1,7	0,7
1,0	2,5	1,0
5,0	4,2	1,7
10,0	4,5	1,8
15,0	4,7	1,9
20,0	4,8	1,9

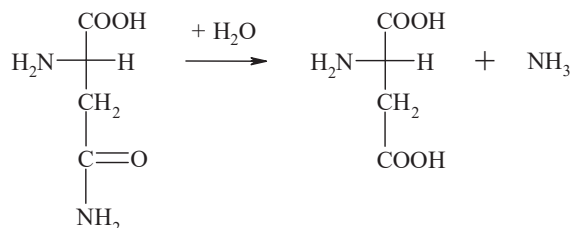
Задание:

- постройте график зависимости скорости реакции от концентрации субстрата в обоих случаях в координатах Михаэлиса – Ментен и Лайнуивера – Берка;
- определите максимальную скорость реакции и константу Михаэлиса;
- какой вид модуляции активности фермента имеет место в данном случае?
- с каким участком молекулы фермента связывается модулятор?

### Типовой вариант тестового контроля по теме «Ферменты»

**Инструкция:** при отсутствии дополнительных указаний в вопросе теста выберите один верный вариант ответа.

- Выберите название фермента, катализирующего следующую реакцию:



- аспарагин: аммиак лигаза;
- аспарагинаминотрансфераза;

- в) аспарагин: аммиак лиаза;
- г) аспарагин:  $\text{H}_2\text{O}$  оксидоредуктаза;
- д) аспарагин: аммиак гидролаза.

2. Фермент липаза катализирует гидролиз триглицеридов в жировой ткани. Под действием другого фермента – протеинкиназы – к молекуле липазы присоединяются фосфатные группы, что увеличивает активность липазы. Как называется такой тип регуляции активности фермента:

- а) конкурентный;
- б) аллостерический;
- в) ковалентная модификация;
- г) индукция-репрессия.

3. Выберите общее свойство ферментов и небиологических катализаторов:

- а) активность регулируется активаторами и ингибиторами;
- б) действуют только при низких температурах;
- в) способны ускорять реакции до  $10^{17}$  раз;
- г) обладают высокой специфичностью к субстрату;
- д) снижают энергетический барьер реакции.

4. Какую роль играют водорастворимые витамины в ферментативном катализе:

- а) являются простыми ферментами;
- б) являются сложными ферментами;
- в) служат предшественниками коферментов;
- г) служат аллостерическими центрами ферментов;
- д) являются конкурентными ингибиторами ферментов.

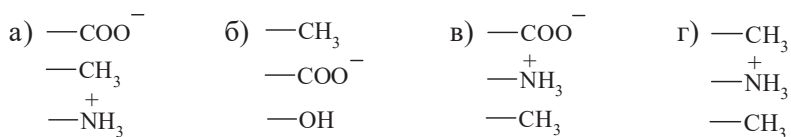
5. В каких клеточных органеллах содержатся ферменты, отвечающие за репликацию и репарацию ДНК:

- а) эндоплазматическая сеть;
- б) ядро;
- в) рибосомы;
- г) аппарат Гольджи;
- д) лизосомы.

6. Какая характеристика фермента остается неизменной при денатурации:

- а) растворимость в воде;
- б) биологическая активность;
- в) константа Михаэлиса;
- г) первичная структура;
- д) вязкость раствора.

7. С активным центром фермента, содержащим серин, глутаминовую кислоту и валин, наиболее вероятно будет взаимодействовать:

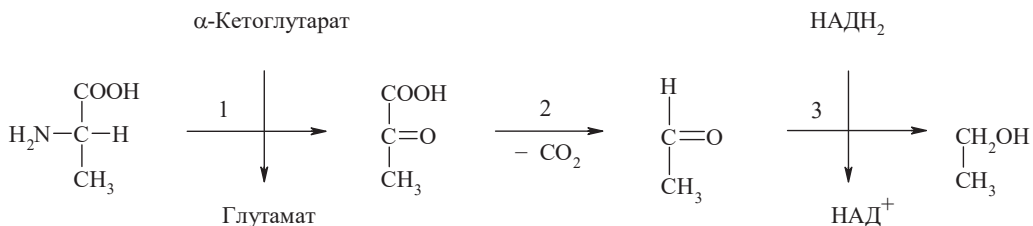


8. Какой ученый предложил теорию, согласно которой в процессе ферментативного катализа происходит взаимное приспособление фермента и субстрата по геометрическому и электронному строению:

- а) Э. Фишер;
- б) Л. Михаэлис;
- в) М. Ментен;
- г) Д. Кошланд;
- д) Э. Корниш-Боуден.

9. Вставьте пропущенные слова (3 ответа) в предложение: «Обратимый конкурентный ингибитор структурно подобен ..., присоединяется к ... центру фермента и вытесняется из него избытком ...»

10. Напишите названия и номера классов ферментов (6 ответов), катализирующих реакции 1, 2 и 3:



## Раздел 2

# БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ

### 2.1. Этапы энергетического обмена

Неотъемлемым свойством живого является *обмен веществ* (метаболизм) – совокупность разнообразных биохимических процессов, в результате которых поступающие питательные вещества усваиваются, происходит освобождение энергии и синтез необходимых организму соединений. Метаболизм состоит из двух частей: *анаболизма* (синтеза сложных веществ из более простых с затратой энергии) и *катаболизма* (распада более сложных веществ до более простых с выделением энергии). Анаболизм и катаболизм неразрывно связаны между собой: анаболизм поставляет катаболизму вещество, катаболизм поставляет анаболизму энергию. Однако в условиях постоянной температуры передача энергии в виде тепла от одного химического процесса другому невозможна. Поэтому в живых системах имеет место передача энергии посредством особых *макроэргических* соединений, обладающих значительным запасом энергии. Универсальным макроэргическим соединением во всех клетках служит *аденозинтрифосфорная кислота* (аденозинтрифосфат, АТФ).

Нередко катаболизм образно называют «горением», говорят, что питательные вещества «сгорают». Аналогия между горением и катаболизмом весьма условна. В обоих случаях мы имеем химическое превращение (окисление) органических веществ в  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в присутствии кислорода. Однако горение – процесс молниеносный, нерегулируемый и неэффективный (вся энергия рассеивается в виде тепла). Напротив, при катаболизме энергия органических веществ выделяется порциями на различных его этапах, достаточно эффективно запасается при синтезе АТФ, а процесс регулируется потребностью клетки в энергии. Установлено, что КПД системы синтеза АТФ в клетке составляет 40–45 %. Баланс между синтезом и расходом АТФ строго соблюдается, поэтому количество АТФ, присутствующее в клетке в каждый момент времени, невелико. Зато масса АТФ, образующаяся и расходующаяся за сутки в организме взрослого человека, сопоставима с массой его тела!

Рассмотрим подробнее «бюджет» метаболизма: в чем заключается суть процессов синтеза АТФ и на какие нужды клетки его расходуют. Известно два способа синтеза АТФ: аэробный (*окислительное фосфорилирование*) и анаэробный (*субстратное фосфорилирование*). Анаэробный катаболизм представляет собой неполное окисление органических веществ, характерен только для углеводов (гликолиз), сопровождается образованием молочной кислоты и малым энергетическим выходом – 2 молекулы АТФ на 1 молекулу глюкозы. В физиологических условиях анаэробный катаболизм дает не более 10 % всей АТФ в клетке. Исключением

из этого общего правила являются скелетные мышцы: в белых мышечных волокнах основное количество АТФ синтезируется анаэробным путем. Кроме того, гликолиз становится единственно возможным путем продукции АТФ в любой клетке при дефиците кислорода – *гипоксии*. Однако анаэробный катаболизм в большинстве случаев не способен длительно поддерживать жизнедеятельность клеток. Так, хорошо известно, что самые чувствительные к гипоксии клетки – нейроны коры больших полушарий головного мозга – могут прожить без кислорода не более 5 мин.

Большинство клеток получают свыше 90 % необходимой АТФ за счет *аэробного* катаболизма. Это высокоэффективный биохимический процесс полного окисления органических веществ (углеводов, липидов и белков) до неорганических соединений  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в присутствии кислорода. Аэробное окисление 1 молекулы глюкозы дает возможность синтезировать 38 молекул АТФ, похожие значения дает окисление аминокислот, а полное окисление липидов поставяет клетке сотни молекул АТФ на 1 молекулу вещества. Большинство клеток могут использовать все три класса питательных веществ как источник энергии. Тем не менее, в их использовании наблюдается очередность: углеводы служат первым энергетическим «топливом», при исчерпании запасов которых клетки переходят на катаболизм липидов. Белки подвергаются катаболизму в последнюю очередь, в экстремальных ситуациях, например, при длительном голодании.

Весь синтезируемый фонд АТФ клетки расходуют на совершение различных видов полезной работы. Во-первых, это *химическая работа* – реакции анаболизма, по определению требующие затраты АТФ. Сюда относятся все биосинтезы в клетках, в особенности самые «дорогостоящие» – синтезы биополимеров (белков, ДНК и РНК, полисахаридов) и липидов. Во-вторых, это *механическая работа* – процессы перемещения клеток и их органелл в пространстве, в том числе и мышечное сокращение. Наконец, это *осмотическая работа* – процессы *активного транспорта* веществ через биологические мембраны, направленные на создание разности концентраций этих веществ внутри клетки и во внеклеточной жидкости. Если в роли таких веществ выступают зараженные частицы – ионы  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ , то формируется не только разность концентраций, но и разность потенциалов. В этом случае говорят о совершении *электрической работы*. Однако следует помнить, что КПД всех этих видов работы существенно ниже 100 %. Оставшаяся доля энергии АТФ переходит в тепло. В этом заключается еще одна важная функция всех процессов распада АТФ – функция *теплопродукции*.

В энергетическом обмене принято различать следующие основные этапы.

**Подготовительный этап.** Включает в себя реакции гидролиза в желудочно-кишечном тракте питательных веществ до их мономеров: белков – до аминокислот, полисахаридов – до моносахаридов (в основном глюкозы), липидов – до жирных кислот и глицерина. Данный этап необходим, чтобы сделать питательные вещества доступными для каждой клетки, поскольку крупные молекулы не подвергаются всасыванию в кровь.



**Промежуточный обмен.** Включает многочисленные биохимические реакции аминокислот, глюкозы, жирных кислот и глицерина, направленные на их превращение в ограниченный круг «малых» молекул – пировиноградной кислоты, ацетилкоэнзима А и ряда других. Промежуточный обмен не требует затраты кислорода и протекает с синтезом небольшого количества АТФ в реакциях субстратного фосфорилирования.

**Терминальный (заключительный) этап.** Происходит полное окисление продуктов промежуточного обмена до неорганических веществ. Этот этап протекает в митохондриях клеток, где происходит потребление кислорода и образование  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , и в ходе окислительного фосфорилирования синтезируется основное количество АТФ.

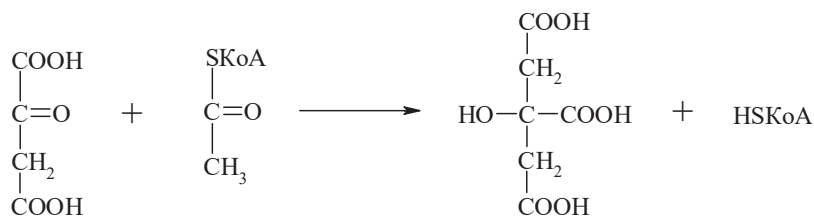
## 2.2. Цикл Кребса

Цикл Кребса (цикл трикарбоновых кислот, ЦТК) является процессом окисления ацетилкоэнзима А – универсального продукта катаболизма углеводов, липидов и белков. ЦТК протекает в митохондриях с участием 8 ферментов, которые локализованы в матриксе в свободном состоянии или на внутренней поверхности внутренней мембраны.

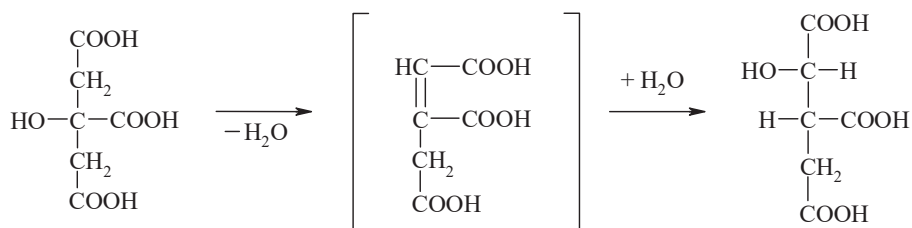
Основной функцией ЦТК является образование восстановленных коферментов НАДН<sub>2</sub> и ФАДН<sub>2</sub>, которые поставляют протоны в дыхательную цепь. Кроме того, субстраты ЦТК могут использоваться для глюконеогенеза, переаминирования, синтеза гема, жирных кислот. Таким образом, ЦТК интегрирует все виды обмена веществ.

### 2.2.1. Реакции ЦТК

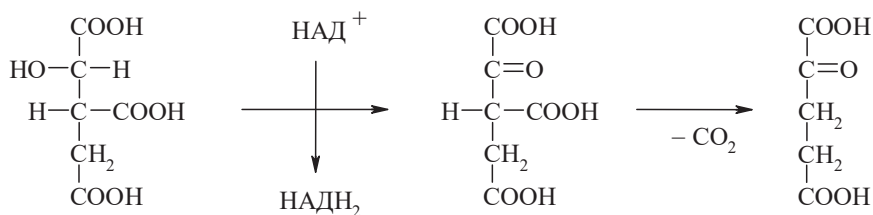
1. Цитратсинтаза катализирует превращение оксалоацетата и ацетилкоэнзима А в лимонную кислоту (цитрат):



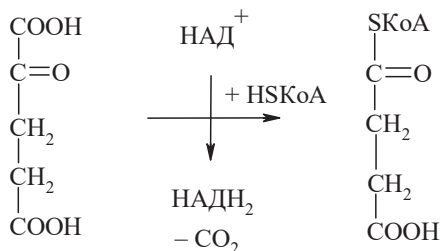
2. Аконитаза превращает цитрат в изолимонную кислоту (изоцитрат). Сначала происходит дегидратация цитрата с образованием промежуточного продукта – *цис*-аконитовой кислоты (*цис*-аконитата). Данное соединение не выходит из активного центра фермента, поэтому его формулу принято обозначать в квадратных скобках. Завершает реакцию присоединение воды по двойной связи с образованием изоцитрата:



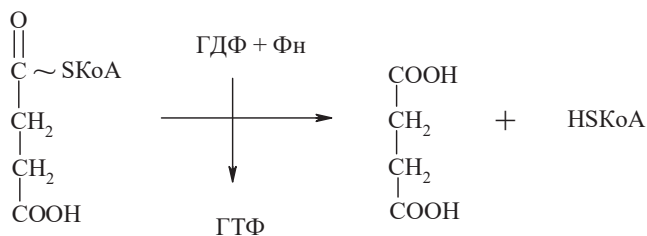
3. Исоцитратдегидрогеназа декарбоксилирующая катализирует окислительное декарбоксилирование исоцитрата. Сначала гидроксильная группа исоцитрата окисляется до кетоновой, образуется щавелеваянтарная кислота (оксалосукцинат). Затем оксалосукцинат теряет карбоксильную группу в виде  $\text{CO}_2$ , образуется  $\alpha$ -кетоглутарат:



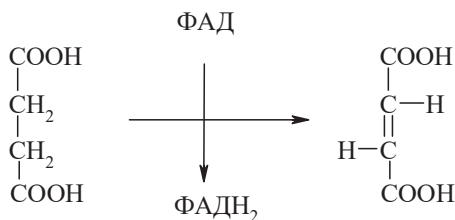
4. Следующая стадия ЦТК – окислительное декарбоксилирование  $\alpha$ -кетоглутарата. Она катализируется  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназным комплексом, состоящим из 3 ферментов и 5 коферментов: тиаминдифосфата, кофермента А, липоамида,  $\text{НАД}^+$ , ФАД. Продукт реакции – сукцинилкоэнзим А – макроэргическое соединение:



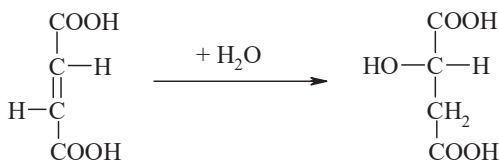
5. Синтез янтарной кислоты (сукцината) ферментом сукцинилкоэнзим А синтетазой. Энергия макроэргической тиоэфирной связи в молекуле сукцинилкоэнзима А затрачивается на синтез молекулы ГТФ из ГДФ и фосфата – это единственная в ЦТК реакция субстратного фосфорилирования:



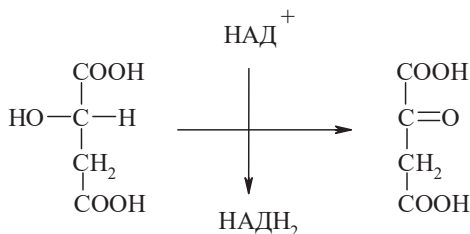
6. Сукцинатдегидрогеназа, флавопротеин внутренней мембраны митохондрии, катализирует окисление сукцината до фумаровой кислоты (фумарата):



7. Фумараза стереоспецифично присоединяет воду по двойной связи фумарата с образованием *L*-яблочной кислоты (*L*-малата):



8. Малатдегидрогеназа замыкает ЦТК окислением гидроксильной группы *L*-малата с образованием оксалоацетата, который затем реагирует с новой молекулой ацетилкоэнзима А, и цикл повторяется вновь:



Общая схема реакций ЦТК представлена на рис. 11.

### 2.2.2. Энергетический баланс одного оборота ЦТК

В 4 окислительно-восстановительных реакциях ЦТК образуются 3 НАДН<sub>2</sub> и 1 ФАДН<sub>2</sub>, которые направляются далее в дыхательную цепь окислительного фосфорилирования. В процессе окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи из 1 НАДН<sub>2</sub> образуется 3 АТФ, из 1 ФАДН<sub>2</sub> – 2 АТФ. Из 1 ГТФ, образующегося в ЦТК за счет субстратного фосфорилирования, синтезируется 1 АТФ. Таким образом, за 1 оборот ЦТК синтезируется 12 АТФ.

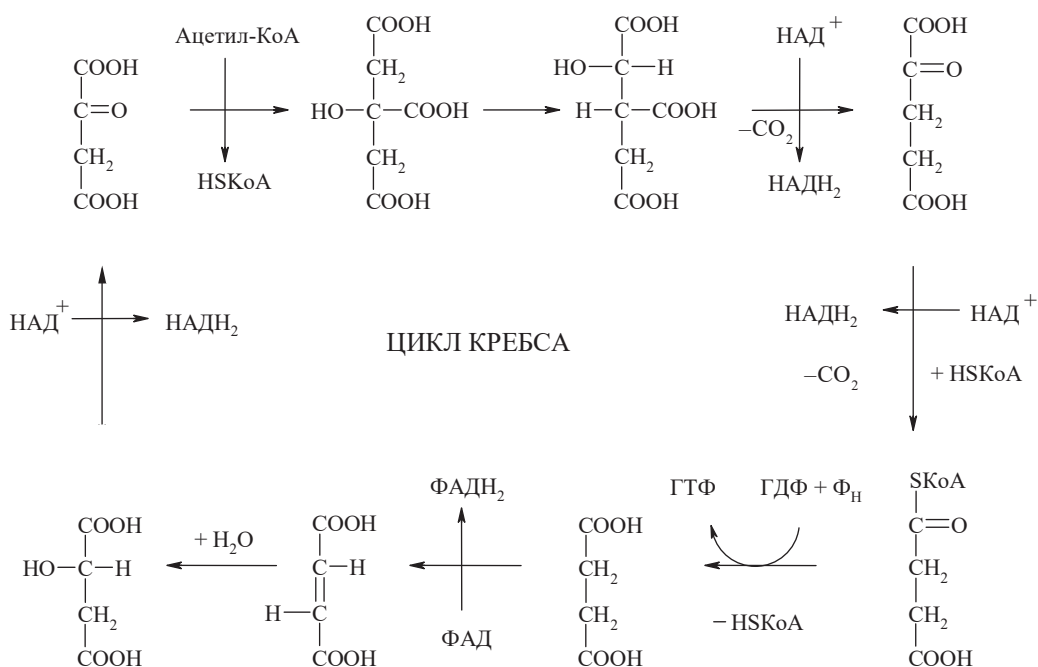


Рис. 11. Общая схема реакций цикла Кребса

## 2.3. Тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование

Заключительным этапом энергетического обмена служат протекающие в митохондриях тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование. Тканевое дыхание – потребление кислорода в дыхательной цепи митохондрий с энергетической целью. Функцию тканевого дыхания выполняет комплекс ферментов, локализованных на внутренней мембране митохондрий. Окислительное фосфорилирование – синтез АТФ на внутренней мембране митохондрий в присутствии кислорода. Процесс окислительного фосфорилирования катализируется ферментом АТФ-синтазой. Краткая характеристика структуры компонентов, необходимых для синтеза АТФ в митохондриях, представлена в табл. 4. Перейдем к рассмотрению механизма их работы.

Компоненты дыхательной цепи располагаются в мембране в порядке повышения их сродства к электрону ( $\bar{e}$ ). Таким образом,  $\bar{e}$  перемещается по дыхательной цепи от веществ с низким сродством к  $\bar{e}$  к веществам с более высоким сродством к  $\bar{e}$ . Окисление НАДН<sub>2</sub> происходит следующим образом:

а) пара  $\bar{e}$  и протонов ( $\text{H}^+$ ) переносятся с НАДН<sub>2</sub> на флавопротеин – НАДН-дегидрогеназу, которая направляет пару  $\text{H}^+$  в межмембранное пространство, а пару  $\bar{e}$  – на железо-серные центры (FeS-центры) дыхательной цепи.

б) убихинон принимает пару  $\bar{e}$  от железо-серных центров и пару  $\text{H}^+$  из матрикса, превращаясь в восстановленный убихинон, затем переносит пару  $\text{H}^+$  в межмембранное пространство, а пару  $\bar{e}$  – на цитохром  $b_{566}$ .

Компоненты системы синтеза АТФ в митохондриях

№ п/п	Компонент	Локализация	Особенности структуры	Функции
1	Субстраты и ферменты БО	НАД-зависимые – в матриксе, ФАД-зависимые – во внутренней мембране	<i>НАД-зависимые субстраты</i> : изопират, $\alpha$ -кетоглутарат, малат, пирuvat, глутамат, $\beta$ -оксацилКоА.	Восстановление НАД <sup>+</sup> и ФАД, оставшие Н <sup>+</sup> в дыхательную цепь
			<i>ФАД-зависимые субстраты</i> : суццинат, ацилКоА, $\alpha$ -глицеролфосфат	
2	НАДН-дегидрогеназа	Внутренняя мембрана	Флавопротеин; кофермент – ФМН; FeS-центр	Перенос $\dot{e}$ и Н <sup>+</sup> с НАДН <sub>2</sub>
	Убихинон (коэнзим Q <sub>10</sub> )	Внутренняя мембрана	Производное хинона + радикал из 10 изопреновых звеньев	Перенос $\dot{e}$ и Н <sup>+</sup> с ФАДН <sub>2</sub>
	Цитохромы $b_{566} \rightarrow b_{582} \rightarrow c_1 \rightarrow c \rightarrow a \rightarrow a_3$	Внутренняя мембрана	Гемопротеины; кофермент – гем, у цитохромоксидазы – дополнительный атом Cu	Перенос $\dot{e}$ на конечный акцептор – кислород
3	АТФ-синтаза	Внутренняя мембрана и матрикс	F <sub>0</sub> – субъединица в мембране; F <sub>1</sub> – субъединица обращена в матрикс	Транспорт Н <sup>+</sup> из межмембранного пространства в матрикс и фосфорилирование АДФ
4	Транслоказа адениловых нуклеотидов	Внутренняя мембрана	Белок-антипортер	Перенос АТФ из матрикса в межмембранное пространство в обмен на АДФ
5	Переносчик фосфата	Внутренняя мембрана	Белок-антипортер	Перенос фосфата из межмембранного пространства в матрикс в обмен на OH <sup>-</sup>

в)  $\bar{e}$  от цитохрома  $b_{566}$  передаются на цитохром  $b_{582}$ , а затем на убихинон, принимающий пару  $H^+$  из матрикса и превращающийся в восстановленный убихинон. Затем восстановленный убихинон вновь передает пару  $H^+$  в межмембранное пространство, а  $\bar{e}$  направляет на железо-серный центр.

г) с этого момента дыхательная цепь осуществляет транспорт только  $\bar{e}$ , транспорт  $H^+$  в матрикс завершен. Электроны, полученные от железо-серного центра, транспортируются по системе цитохромов  $c_1$ ,  $c$ ,  $a$  и  $a_3$  на конечный акцептор – кислород.

д) цитохромы  $a$  и  $a_3$  тесно связаны друг с другом и получили общее название *цитохромоксидаза*, поскольку они непосредственно контактируют с молекулярным кислородом. В состав цитохромоксидазы входит не только гемовое железо, но и медь. В активном центре цитохромоксидазы происходит реакция



Таким образом, в дыхательной цепи митохондрий осуществляется четырехэлектронное восстановление кислорода с образованием «метаболической воды».

В случае окисления  $ФАДН_2$  последовательность событий та же, но начинается с пункта (б): убихинон принимает пару  $\bar{e}$  и  $H^+$  непосредственно от  $ФАДН_2$ .

Установлено, что разность окислительно-восстановительных потенциалов между первым ( $НАДН_2$ ) и последним (кислородом) компонентом дыхательной цепи составляет около 1,14 В, что создает запас энергии около 220 кДж, достаточный для синтеза 3 молекул АТФ. Поэтому вся дыхательная цепь условно может быть поделена на 3 участка, разность окислительно-восстановительных потенциалов в которых достаточна для синтеза 1 молекулы АТФ – 3 *пункта сопряжения* дыхания и фосфорилирования: 1-й – между  $НАДН_2$  и  $НАДН$ -дегидрогеназой, 2-й – между цитохромами  $b_{582}$  и  $c$ , 3-й – между цитохромами  $a$  и  $a_3$ . Таким образом, окисление 1 молекулы  $НАДН_2$  в дыхательной цепи дает возможность синтезировать 3 молекулы АТФ, а 1 молекулы  $ФАДН_2$  – только 2 молекулы АТФ.

### 2.3.1. Хемиосмотическая теория

Для объяснения механизма окислительного фосфорилирования в 1961 г. П. Митчеллом была предложена *хемиосмотическая теория*. В обобщенном виде суть хемиосмотической теории можно представить следующим образом: внутренняя мембрана митохондрий разделяет потоки  $\bar{e}$  и  $H^+$  – первые транспортируются вдоль мембраны, вторые – поперек, при этом создается трансмембранный электрохимический потенциал, обусловленный разностью зарядов и концентраций протонов в матриксе и межмембранном пространстве митохондрий. Энергия этого электрохимического потенциала используется АТФ-синтазой для синтеза АТФ из АДФ и фосфата, т. е. для фосфорилирования. Согласно концепции П. Митчелла тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование сопряжены, а сопрягающим звеном между ними служит электрохимический потенциал: дыхание создает его, а фосфорилирование расходует.

При переносе  $H^+$  из матрикса в межмембранное пространство на внутренней мембране создается *осмотический градиент протонов (химический потенциал)*

$\Delta pH = 60$  мВ (при  $\Delta pH = 1$ ) (в матриксе pH выше, чем в межмембранном пространстве). Так как каждый  $H^+$  несет положительный заряд, на внутренней мембране также появляется *разность электрических потенциалов*  $\Delta V = 160$  мВ, внутренняя сторона мембраны заряжается отрицательно, внешняя – положительно. В сумме осмотический градиент протонов и разность потенциалов образуют *электрохимический потенциал*, который составляет около 220 мВ.

Энергия образовавшегося на внутренней мембране митохондрий электрохимического потенциала может использоваться для фосфорилирования АДФ в АТФ, транспорта веществ через мембрану митохондрий и теплопродукции.

Сведения о структуре и функциях компонентов дыхательной цепи и АТФ-синтазы обобщены в табл. 4.

### 2.3.2. Механизм окислительного фосфорилирования

Процесс фосфорилирования осуществляется АТФ-синтазой ( $H^+$ -АТФ-аза), которая потребляет 40–45 % свободной энергии, выделившейся при окислении. АТФ-синтаза представляет собой интегральный белок, состоящий из двух субъединиц –  $F_0$  и  $F_1$ . Субъединица  $F_0$  – канал в мембране, предназначенный для транспорта протонов из межмембранного пространства в матрикс. Субъединица  $F_1$  – каталитическая – именно она катализирует реакцию синтеза АТФ из АДФ и фосфата. Когда значение трансмембранного потенциала достигает критической величины 200–250 мВ,  $H^+$  устремляются из межмембранного пространства в матрикс по открывшемуся каналу. Выделяющаяся в результате этого энергия расходуется ферментом на образование макроэргической связи АТФ из АДФ и фосфата – окислительное фосфорилирование. При каждом переносе  $H^+$  через канал  $F_0$  энергия электрохимического потенциала расходуется на поворот стержня субъединицы  $F_1$ , в результате чего изменяется конформация фермента, облегчается связывание АДФ и фосфата.

## 2.4. Регуляция энергетического обмена

Цикл Кребса, тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование функционируют в клетке согласованно. Главный принцип их согласованной регуляции: синтез АТФ должен отвечать потребностям клетки в нем. Когда в клетке активно происходит потребление АТФ, накапливается АДФ. Именно АДФ является главным стимулятором всех этапов энергетического обмена. Зависимость скорости дыхания клеток от концентрации АДФ получила название *дыхательный контроль*.

Дыхательный контроль осуществляется с участием 4 регуляторных ферментов ЦТК: цитратсинтазы, изоцитратдегидрогеназы,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса и малатдегидрогеназы. Эти ферменты ЦТК ингибируются НАДН<sub>2</sub> и АТФ, которые являются продуктами ЦТК и окислительного фосфорилирования. НАД<sup>+</sup> и АДФ активируют эти ферменты ЦТК. Кроме того, скорость окислительного фосфорилирования напрямую лимитируется доступностью АДФ, который поступает в матрикс в обмен на АТФ.

Энергетический обмен находится также и под гормональным контролем. Инсулин через ряд промежуточных посредников активирует ЦТК на уровне  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса, а также активирует окислительное декарбоксилирование пирувата, поставляющего ацетилкоэнзим А циклу Кребса, и гликолиз, продуцирующий пируват. Хорошо известно, что при дефиците инсулина, который развивается при сахарном диабете, эти аэробные процессы ингибированы, а пируват превращается в лактат. Стимулируют энергетический обмен в клетке гормоны щитовидной железы – тироксин и трийодтиронин. Под действием тиреоидных гормонов активируется перенос АДФ в матрикс митохондрии, ускоряются тканевое дыхание и синтез АТФ, а также увеличивается теплопродукция.

## 2.5. Другие пути использования кислорода

Известны также пути использования кислорода с пластическими целями. Реакции микросомального окисления, активно протекающие в печени и надпочечниках, приводят к внедрению кислорода в окисляемый субстрат. Эндогенными субстратами микросомального окисления являются холестерин, стероидные гормоны, ненасыщенные жирные кислоты. Велико значение этого процесса для обезвреживания ксенобиотиков (чужеродных организму соединений).

Небольшое количество кислорода в клетках превращается в активные формы – свободные радикалы и их предшественники, способные нарушать структуру липидов, белков, нуклеиновых кислот. Для защиты от подобного повреждения в клетках имеется антиоксидантная система, включающая ряд ферментов (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза) и низкомолекулярных органических веществ, в том числе витаминов А, С, Е, липоевой кислоты и глутатиона.

Сравнительная характеристика различных путей использования кислорода в клетке представлена в табл. 5.

## Вопросы для проверки усвоения материала

1. Понятие об обмене энергии в живых системах, биоэнергетике и биологическом окислении. Макроэргические связи и макроэргические соединения, их виды и значение. АТФ как универсальный энергоноситель. Пути генерации и использования АТФ в клетке, сравнительная характеристика окислительного и субстратного фосфорилирования.

2. Этапы утилизации энергии питательных веществ: подготовительный, промежуточный обмен и митохондриальный, сущность и значение. Образование и экскреция  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  – конечных продуктов метаболизма.

3. Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса): сущность и биологическое значение. Реакции цикла Кребса: субстраты, ферменты, коферменты. Регуляция цикла Кребса.



Пути использования кислорода в реакциях биологического окисления

Путь	% от потребляемого $O_2$	Химическая сущность	Локализация в клетке	Ферментные системы	Биологическое значение
Оксидазный	90	$O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O$	Внутренняя мембрана митохондрий	Дыхательная цепь. Поставщики $H^+$ – $НАД^+$ - и $ФАД$ -зависимые дегидрогеназы ЦТК, $\beta$ -окисления и др.	Энергетическое
Моно-оксигеназный	8	$SH_2 + O_2 + НАД(Ф)H_2 \rightarrow \dot{S}H-OH + НАД(Ф)^+ + H_2O$	Наружная мембрана митохондрий, мембрана гладкой ЭПС, аппарата Гольджи, ядра, плазмолемма	Флавопротеин, цитохромы $P_{450}$ и $b_5$ . Поставщики $НАД(Ф)H_2$ – пентозофосфатный путь, цитозольные малат- и изоцитратдегидрогеназа	1. Синтез эндогенных веществ (желчных кислот, стероидных гормонов, аминокислот, катехоламинов, витаминов А и D <sub>3</sub> ). 2. Катаболизм эндогенных субстратов (билирубин, стероидные гормоны) и ксенобиотиков (лекарства и яды)
Диоксигеназный	2	$SH_2 + O_2 \rightarrow HO-S-OH$ или $S + O_2 \rightarrow O=S=O$			
Свободно-радикальный	< 1	$S + АФК \rightarrow S-O-O\cdot$ и т. д.	Повсеместно	Неферментативные цепные свободнорадикальные реакции	1. Обновление мембран, фагоцитоз, синтез эйкозаноидов, процессы апоптоза. 2. Повреждение мембран, белков, ДНК, процессы некроза, воспаления, канцерогенеза

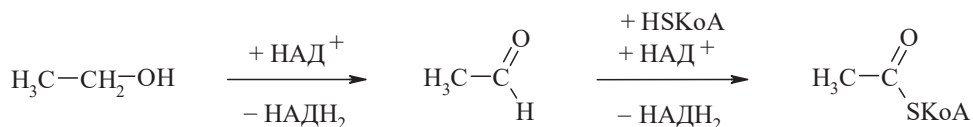
4. Дыхательная цепь митохондрий: строение и функции, свойства компонентов, биологическое значение. Строение и функции АТФ-синтетазы. Механизм сопряжения тканевого дыхания (ТД) и окислительного фосфорилирования (ОФ) – хемиосмотическая теория Митчелла. Разобщение ТД и ОФ: сущность и биологическое значение.

5. Моно- и диоксигеназные реакции (микросомальное окисление). Роль микросомального окисления в обезвреживании ксенобиотиков. Свободнорадикальный путь использования кислорода: активные формы кислорода, их биологическое значение. Антиоксидантная защита клетки: ферментативные и неферментативные механизмы, их значение.

### Письменное домашнее задание

#### Обязательное

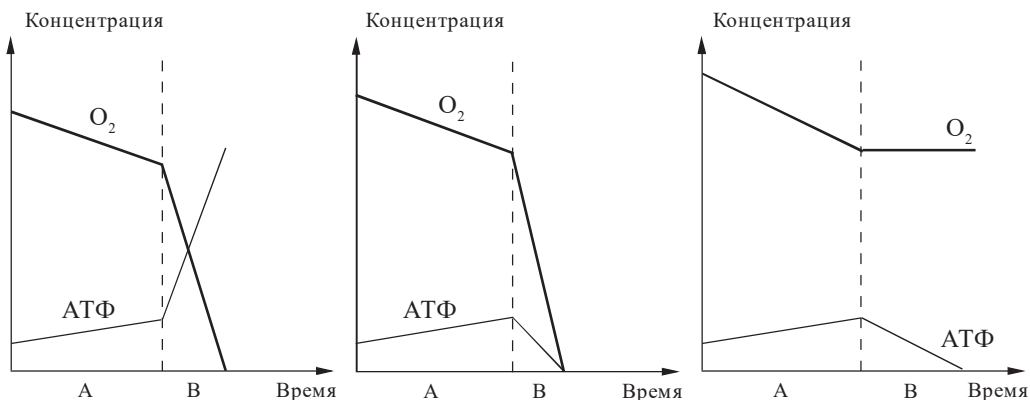
1. Катаболизм этанола в организме протекает в печени преимущественно по следующей схеме:



и завершается окислением ацетил-КоА в цикле Кребса.

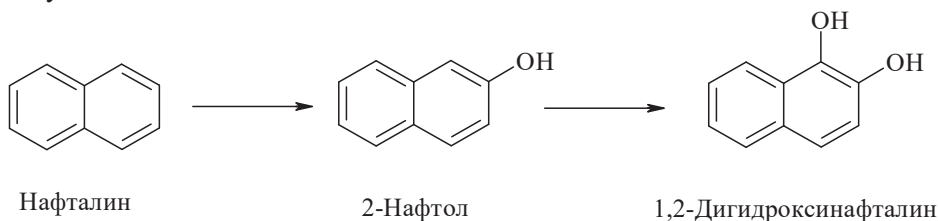
Рассчитайте энергетический баланс (количество молекул АТФ) полного окисления этанола до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Какие вещества (ферменты, коферменты, субстраты) необходимы для полноценного катаболизма этанола?

2. Из клеток миокарда выделили митохондрии и инкубировали в среде с достаточным содержанием кислорода и субстратов биологического окисления. В ходе эксперимента в суспензию добавляли различные вещества, обладающие известным действием на процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования: АДФ, ингибитор дыхательной цепи, разобщитель дыхания и фосфорилирования. На следующем рисунке представлены графики потребления кислорода и образования АТФ в данной системе до введения модуляторов (участок А) и после него (участок В):



Какие из приведенных модуляторов могли обусловить наблюдаемые закономерности в каждом случае? Ответ обоснуйте.

3. Нафталин – токсичное соединение. При поступлении в организм через желудочно-кишечный тракт нафталин накапливается в печени, где обезвреживается по следующей схеме:

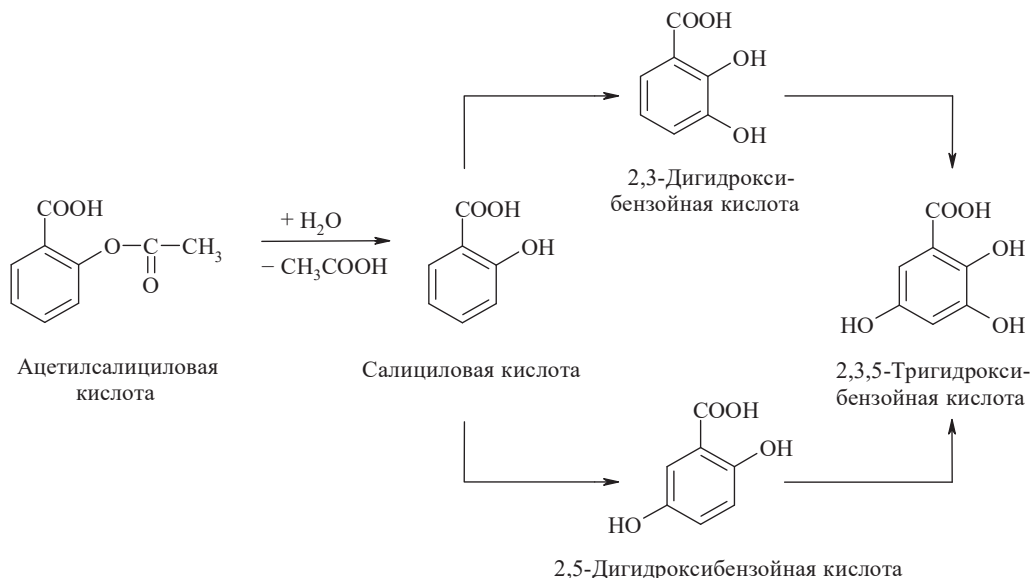


Какой путь потребления кислорода имеет место в данном случае? Укажите на схеме ферменты и коферменты каждой стадии. Какое биологическое значение имеет изменение растворимости в воде метаболитов по сравнению с нафталином?

4. В условиях нормальной работы митохондрий кислород восстанавливается до воды по следующей схеме:  $O_2 + 4\bar{e} + 4H^+ \rightarrow H_2O$ , однако небольшое его количество превращается в супероксидный анион-радикал:  $O_2 + \bar{e} \rightarrow O_2^{\cdot -}$ . Каково положительное и отрицательное значение этого процесса? Какие механизмы имеются в клетке для инактивации данного соединения? Предположите, при каких условиях митохондрии будут продуцировать большие количества супероксида?

### Д о п о л н и т е л ь н о е

1. Ацетилсалициловая кислота (аспирин) широко применяется как противовоспалительное, жаропонижающее и обезболивающее средство. В желудочно-кишечном тракте ацетилсалициловая кислота гидролизуется на уксусную и салициловую кислоты, последняя метаболизируется в печени по следующей схеме:



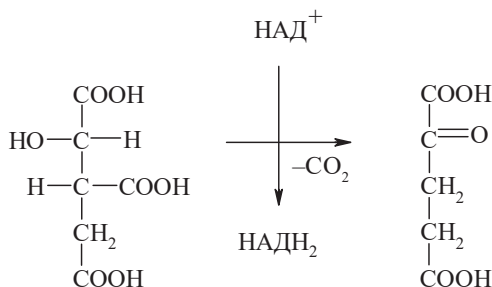
Определите, какой путь потребления кислорода имеет место в данном случае. Укажите на схеме ферменты и коферменты каждой стадии. Как изменяется растворимость метаболитов в воде по сравнению с салициловой кислотой? Какое биологическое значение имеет это явление?

2. К культуре клеток был добавлен фосфолипид, меченый радиоактивным  $^{14}\text{C}$  по линоленовой кислоте. Введенная метка была быстро обнаружена в плазматической мембране клеток. Однако после ультрафиолетового облучения культуры содержание метки в мембранах снизилось в 2 раза. Опыт повторили, предварительно добавив к культуре витамин Е. В этих условиях содержание метки снизилось только на 10 %. В чем причина выявленных различий?

## Типовой вариант тестового контроля по теме «Биологическое окисление»

**Инструкция:** при отсутствии дополнительных указаний в вопросе теста выберите один верный вариант ответа.

1. Выберите название фермента, катализирующего следующую реакцию цикла Кребса:



- а) фумараза;
- б) изоцитратдегидрогеназа;
- в) малатдегидрогеназа;
- г) сукцинатдегидрогеназа;
- д) цитратсинтаза.

2. Что из перечисленного происходит на митохондриальном этапе энергетического обмена:

- а) окислительное фосфорилирование;
- б) дегидрирование карбоновых кислот в цикле Кребса;
- в) разрушение ацетилкоэнзима А до  $\text{CO}_2$ ;
- г) восстановление кислорода до воды;
- д) все перечисленное.

3. Как изменяется потребление кислорода и синтез АТФ митохондриями при воздействии на них цианидов – ингибиторов дыхания:

- а) потребление кислорода увеличивается, синтез АТФ увеличивается;
- б) потребление кислорода увеличивается, синтез АТФ уменьшается;
- в) потребление кислорода уменьшается, синтез АТФ увеличивается;
- г) потребление кислорода уменьшается, синтез АТФ уменьшается.

4. Какую функцию в клетке выполняет витамин Е:

- а) необходим для протекания цикла Кребса;
- б) участвует в реакциях субстратного фосфорилирования;
- в) переносит электроны и протоны в дыхательной цепи митохондрий;
- г) является главным жирорастворимым антиоксидантом;
- д) является разобщителем дыхания и фосфорилирования.

5. Какой кофермент необходим для работы цитохрома P<sub>450</sub>:

- а) НАДН<sub>2</sub>;
- б) НАДФН<sub>2</sub>;
- в) аскорбиновая кислота;
- г) липоевая кислота;
- д) тиаминпирофосфат.

6. Какова энергетическая эффективность окисления в дыхательной цепи коферментов НАДН<sub>2</sub> и ФАДН<sub>2</sub>:

- а) НАДН<sub>2</sub> и ФАДН<sub>2</sub> – по 3 АТФ;
- б) НАДН<sub>2</sub> и ФАДН<sub>2</sub> – по 2 АТФ;
- в) НАДН<sub>2</sub> – 3 АТФ, ФАДН<sub>2</sub> – 2 АТФ;
- г) НАДН<sub>2</sub> – 2 АТФ, ФАДН<sub>2</sub> – 3 АТФ.

7. Укажите роль глутатиона (G–SH) в антиоксидантной системе клетки:

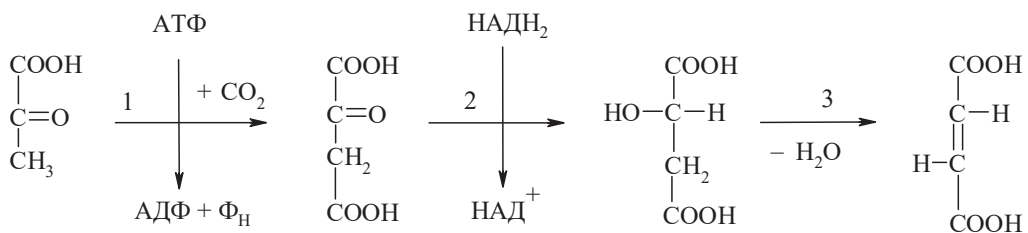
- а) является коферментом глутатионпероксидазы;
- б) является коферментом глутатионредуктазы;
- в) обезвреживает супероксидный анион-радикал;
- г) является главным жирорастворимым антиоксидантом;
- д) все перечисленное.

8. Выберите характеристику микросомального окисления ксенобиотиков:

- а) расходуется кислород, липофильные вещества становятся гидрофильными;
- б) расходуется кислород, гидрофильные вещества становятся липофильными;
- в) кислород не расходуется, липофильные вещества становятся гидрофильными;
- г) кислород не расходуется, гидрофильные вещества становятся липофильными.

9. Вставьте пропущенные слова (3 ответа) в предложение: «Движение ... по дыхательной цепи митохондрий создает запас энергии для перемещения ... через мембрану, энергия мембранного потенциала тратится на синтез ...»

10. Напишите названия и номера классов ферментов (6 ответов), катализирующих реакции 1, 2 и 3:



## Раздел 3

# ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

### 3.1. Биологическая роль углеводов

Углеводы наряду с белками и липидами являются важнейшими химическими соединениями, входящими в состав живых организмов. У человека и животных углеводы выполняют важные функции:

- энергетическую (главный вид клеточного топлива). На их долю приходится более 50 % от суточного количества необходимых калорий. В энергетическом обмене главная роль принадлежит глюкозе и гликогену;

- структурную (обязательный компонент большинства внутриклеточных структур). К ним относятся пентозы нуклеотидов и нуклеиновых кислот, углеводы гликопротеинов и гликолипидов. В виде гликозаминогликанов углеводы входят в состав межклеточного матрикса;

- защитную (иммуноглобулины, участвующие в поддержании иммунитета, содержат углеводную компоненту). Глюкуроны участвуют в процессах детоксикации эндогенных ядов и ксенобиотиков;

- из углеводов в организме могут синтезироваться соединения других классов, в частности, липиды и некоторые аминокислоты.

Таким образом, углеводы, помимо основной энергетической, выполняют многообразные функции, каждая из которых жизненно важна для организма.

### 3.2. Переваривание и всасывание углеводов

Обмен (метаболизм) углеводов в организме человека начинается с расщепления в пищеварительном тракте поступающих с пищей полисахаридов и дисахаридов до моносахаридов и всасывания моносахаридов из кишечника в кровь.

При переваривании углеводов в желудочно-кишечном тракте происходит ферментативный гидролиз гликозидных связей и образование моносахаридов, главным из которых является глюкоза. Гидролиз крахмала начинается в полости рта при участии амилазы слюны, которая частично расщепляет внутренние  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи, образуя менее крупные, чем крахмал, молекулы – декстрины. Далее гидролиз крахмала продолжается в верхнем отделе кишечника под действием панкреатической амилазы, также расщепляющей  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи. В результате из крахмала образуются дисахаридные остатки мальтозы и изомальтозы. Гидролиз всех дисахаридов происходит на поверхности клеток тонкой кишки и катализируется специфическими ферментами: сахаразой, лактазой, мальтазой и изомальтазой.

Всасывание моносахаридов из кишечника в кровь осуществляется путем облегченной диффузии. Если концентрация глюкозы в кишечнике невелика, то ее транспорт может происходить за счет градиента концентрации ионов натрия, создаваемого  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азой.

Поступающая из просвета кишечника глюкоза с кровью воротной вены попадает в печень, где часть ее задерживается, а часть через общий кровоток транспортируется в другие органы и ткани.

Транспорт глюкозы из крови в клетки регулируется гормоном поджелудочной железы – инсулином. Действие инсулина приводит к перемещению белков-переносчиков из цитозоля клетки в плазматическую мембрану. Затем с помощью этих белков глюкоза поступает в клетку по градиенту концентрации.

Исключение составляют мозг и печень. Скорость поступления глюкозы в клетки этих органов не зависит от инсулина и определяется только концентрацией ее в крови. Эти ткани называются инсулинонезависимыми.

### 3.3. Метаболизм глюкозы

Глюкоза играет главную роль в метаболизме, так как именно она является основным источником энергии.

Превращения глюкозы в клетке начинаются с образования глюкозо-6-фосфата за счет переноса концевой остатка фосфата АТФ в положение 6 глюкозы (рис. 12). Поскольку образование глюкозо-6-фосфата происходит за счет разрыва макроэргической связи в молекуле АТФ, то реакция фактически необратима. Реакцию катализирует фермент гексокиназа, присутствующий почти во всех животных, растительных и бактериальных клетках.

Гексокиназная реакция имеет важное биологическое значение. Глюкозо-6-фосфат, в отличие от самой глюкозы, не может проникать через клеточную мембрану, тем самым глюкоза «запирается» в клетке. Это создает условия для дальнейшего метаболизма глюкозы, поступившей в клетку.

С другой стороны, фосфорилирование глюкозы «расшатывает» симметричную и устойчивую циклическую форму глюкозы, делая ее более реакционноспособной. Тем самым облегчаются ее последующие преобразования.

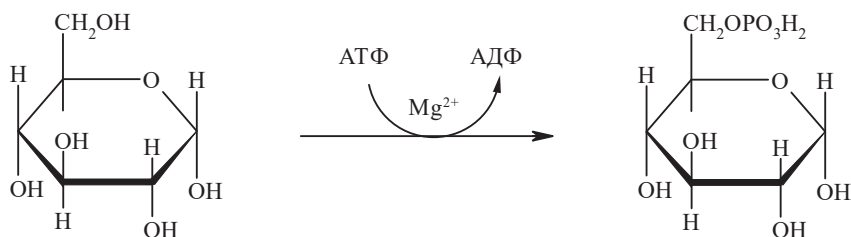


Рис. 12. Реакция фосфорилирования глюкозы



Реакция фосфорилирования является ключевым звеном всего метаболизма глюкозы, выполняя лимитирующую и регуляторную функцию.

Лимитирующая роль гексокиназы обусловлена ее кинетическими свойствами. Фермент обладает исключительно высоким сродством к глюкозе ( $K_m < 0,1 \text{ мМ}$ ), т. е.  $v_{\max}$  достигается при низкой концентрации глюкозы. Скорость всех дальнейших метаболических превращений глюкозы не может превышать  $v_{\max}$  гексокиназной реакции.

Единственное исключение – клетки печени, в которых наряду с гексокиназой есть еще ее изофермент глюкокиназа, обладающий в 1000 раз большим значением  $K_m$ . Это значит, что насыщение глюкокиназы происходит только при высокой концентрации глюкозы.

Эти различия в свойствах ферментов объясняют, почему в период пищеварения глюкоза задерживается в основном в печени. После приема пищи содержание глюкозы в воротной вене резко возрастает: в тех же пределах увеличивается и ее внутрипеченочная концентрация. Глюкокиназа при высокой концентрации глюкозы в этот период максимально активна, что приводит к увеличению поглощения глюкозы печенью. Напротив, гексокиназа, обладая большим сродством к глюкозе, способна выхватывать ее из общего кровотока, где концентрация глюкозы ниже.

Регуляторная роль гексокиназы реализуется по принципу обратной связи. Продукт реакции глюкозо-6-фосфат является аллостерическим ингибитором своего фермента. Если дальнейшая утилизация глюкозо-6-фосфата уменьшается, то накапливающийся его избыток тормозит гексокиназу, замедляя использование новых порций поступающей глюкозы. Глюкокиназа избытком глюкозо-6-фосфата не угнетается.

Гексокиназная реакция лежит на перекрестке всех путей превращения углеводов (рис. 13).

Основные пути метаболизма глюкозы:

- катаболизм глюкозы – гликолиз;
- синтез глюкозы – глюконеогенез;
- синтез и распад гликогена;
- синтез пентоз – пентозофосфатный путь.
- превращение глюкозы в жирные кислоты и холестерол.

### 3.3.1. Гликолиз

Гликолиз (от греч. *glycys* – сладкий и *lysis* – распад) – процесс окисления глюкозы, в результате которого происходит расщепление глюкозы с образованием 2 молекул пирувата (аэробный гликолиз) или 2 молекул лактата (анаэробный гликолиз). При аэробных условиях пируват проникает в митохондрии, где полностью окисляется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Если содержание кислорода недостаточно, как это может иметь место в активно сокращающейся мышце, пируват превращается в лактат.

Гликолиз – один из центральных путей катаболизма глюкозы не только в животных и растительных клетках, но также у многих микроорганизмов.

Биологическое значение гликолиза состоит в том, что это основной путь расщепления глюкозы до конечных продуктов  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Именно этот путь поставляет

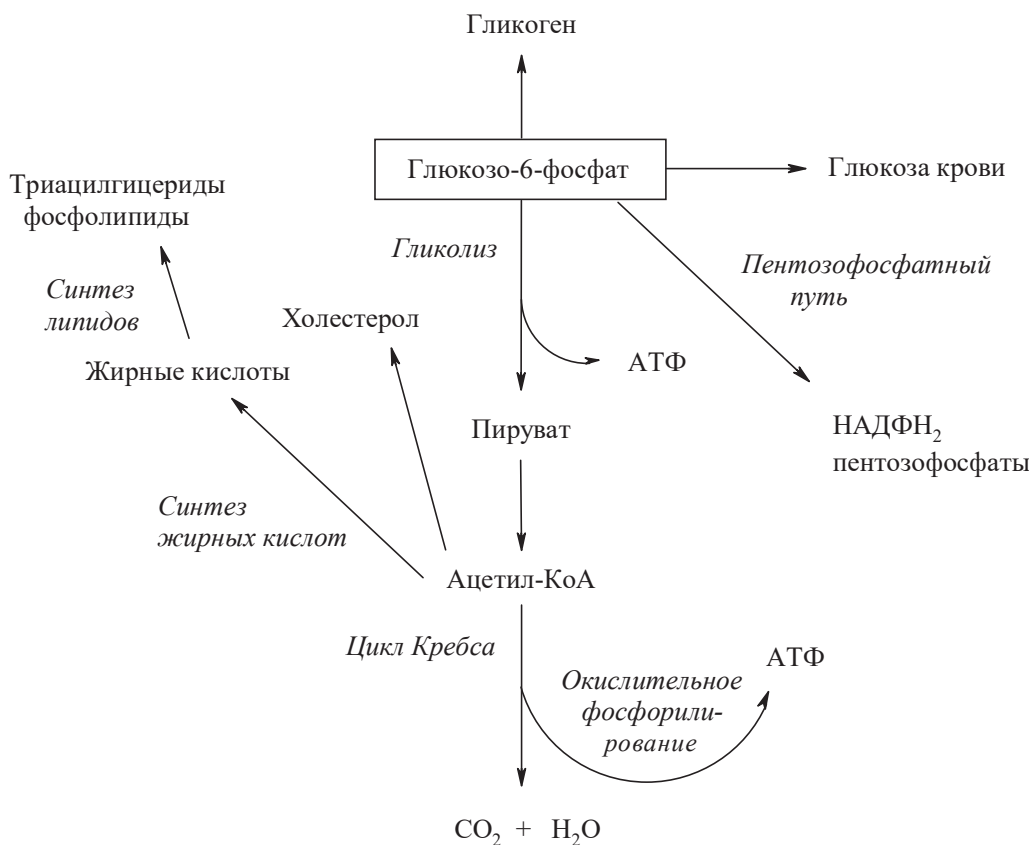
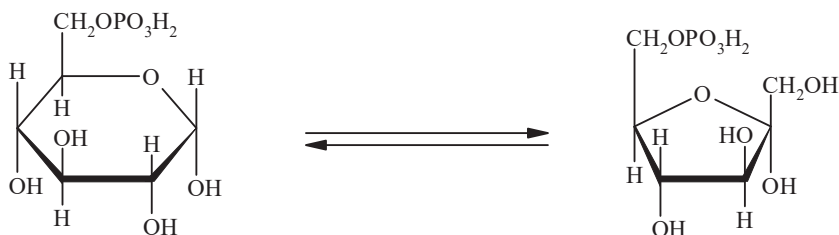


Рис. 13. Пути превращения глюкозо-6-фосфата в печени

клетке преобладающую долю АТФ – до 60–70 % при обычном пищевом рационе человека. Все десять реакций гликолиза протекают в цитозоле клетки и характерны для всех органов и тканей. Последовательность реакций гликолиза приведена на рис. 14.

Первой реакцией гликолиза является рассмотренная выше АТФ-зависимая реакция фосфорилирования глюкозы до глюкозо-6-фосфата.

Вторая стадия – обратимая изомеризация глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат, катализируемая фосфоглюкоизомеразой:



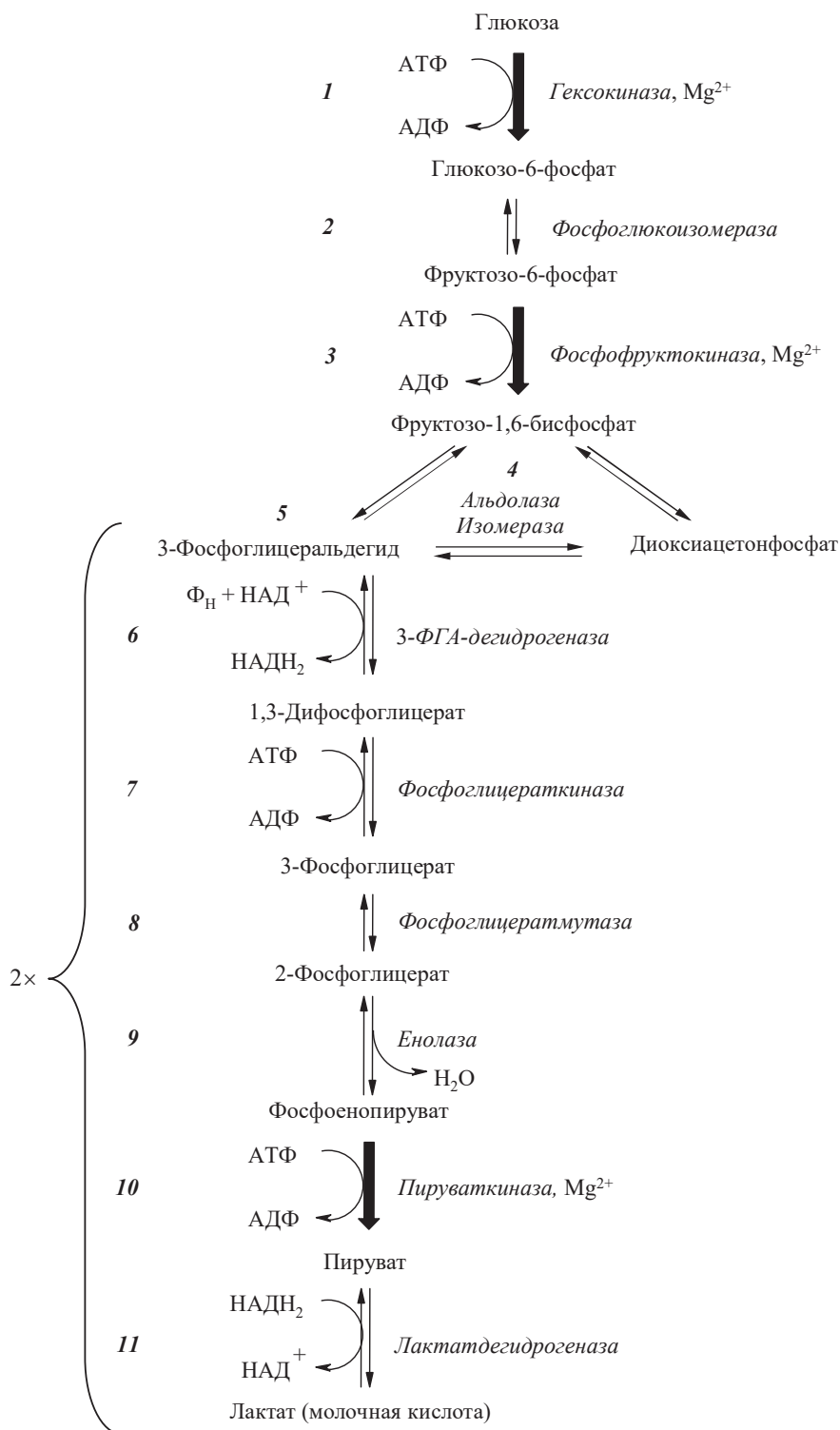
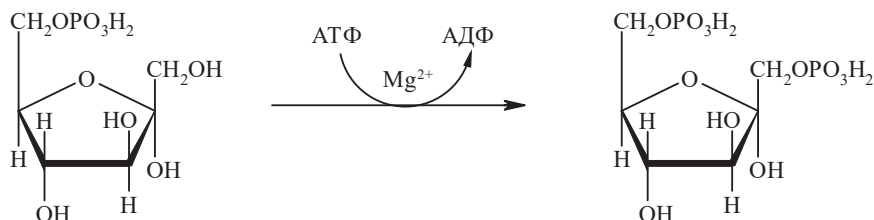


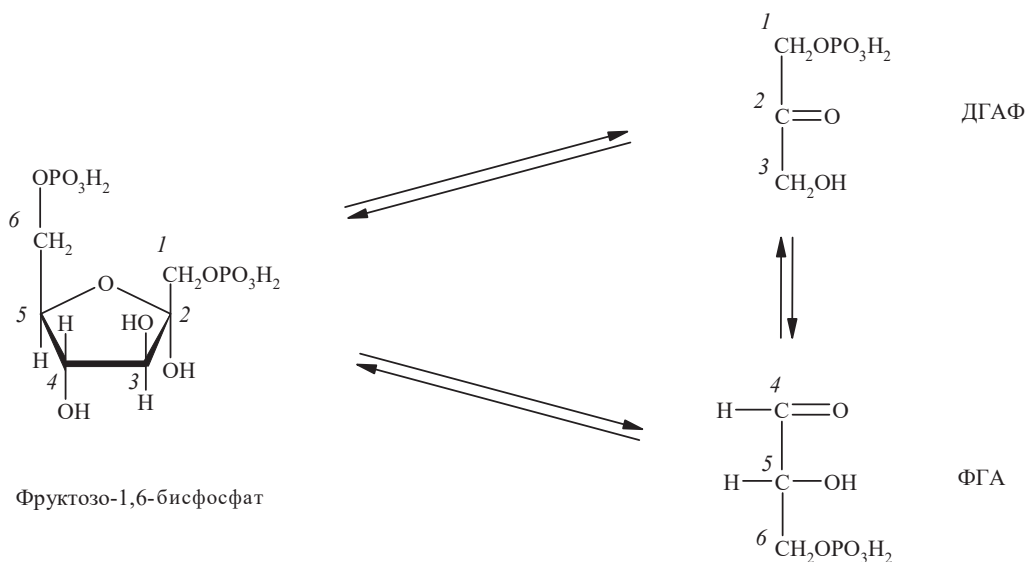
Рис. 14. Схема реакций гликолиза

Образовавшийся фруктозо-6-фосфат на третьей стадии фосфорилируется до фруктозо-1,6-дифосфата. Подобно гексокиназной, эта реакция необратима и является наиболее медленной реакцией гликолиза:



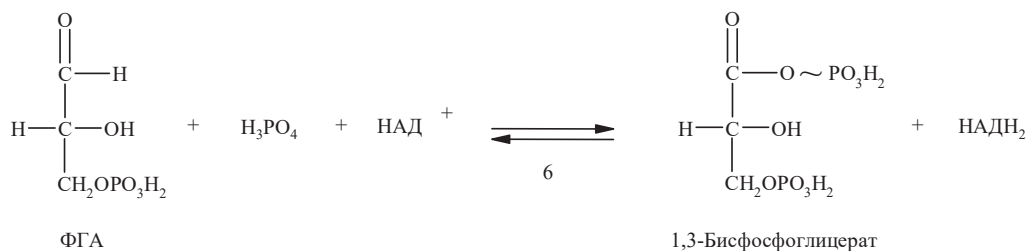
Фермент фосфофруктокиназа, катализирующий эту стадию, является важным ключевым ферментом гликолиза. Фосфофруктокиназа относится к числу аллостерических ферментов. Она ингибируется АТФ и стимулируется АМФ. При увеличении отношения АТФ/АМФ активность фосфофруктокиназы угнетается и гликолиз замедляется. Напротив, при снижении этого коэффициента интенсивность гликолиза повышается. Так, в неработающей мышце концентрация АТФ относительно высокая, соответственно активность фосфофруктокиназы низкая. Во время работы мышцы происходит интенсивное потребление АТФ и активность фосфофруктокиназы повышается, что приводит к усилению процесса гликолиза.

Четвертая стадия заключается в расщеплении фруктозо-1,6-дифосфата ровно пополам на две фосфотриозы. Эту обратимую реакцию катализирует альдолаза фруктозобисфосфата. Продукты реакции 3-фосфоглицеральдегид (ФГА) и дигидроксиацетонфосфат (ДГАФ) изомерны друг другу:

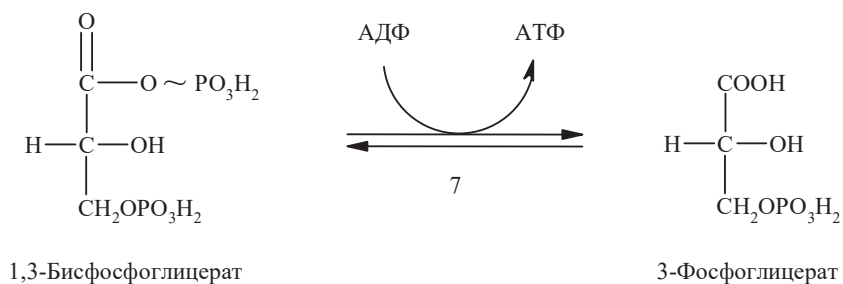


Пятую стадию обеспечивает фермент триозофосфатизомераза, ускоряющий превращение дигидроксиацетонфосфата в 3-фосфоглицеральдегид. В равновесном состоянии доля фосфоглицеральдегида не более 5 %. Однако в дальнейших реакциях используется именно этот изомер. Поэтому фактически триозофосфатизомераза обеспечивает достаточно быстрое восполнение 3-фосфоглицеральдегида по мере его убыли (т. е. катализирует реакцию, по существу, в одном направлении). На этом завершается первый этап гликолиза.

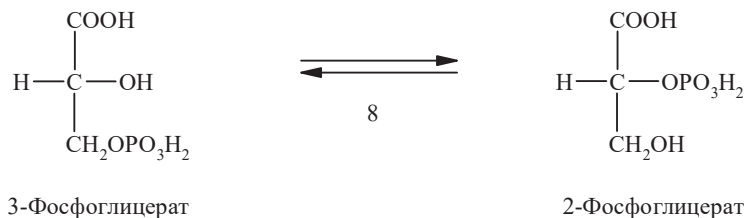
Шестая стадия – окисление альдегидной группы 3-фосфоглицеральдегида под действием 3-фосфоглицеральдегид-дегидрогеназы. Обычно окисление альдегидной группы происходит путем присоединения молекулы воды с последующим отнятием 2 атомов водорода, вследствие чего альдегидная группа превращается в карбоксильную. Однако при окислении 3-фосфоглицеральдегида специфика НАД<sup>+</sup>-зависимой дегидрогеназы обеспечивает использование не воды, а фосфорной кислоты. В результате образующаяся карбоксильная группа сразу же оказывается связанной с фосфатным остатком. Возникшая смешанная ангидридная связь является макроэргической:



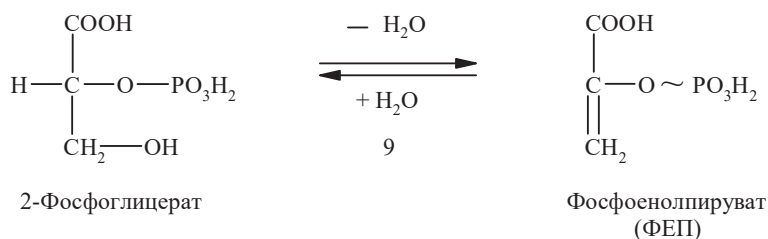
Седьмая стадия представляет собой реакцию субстратного фосфорилирования. За счет энергии, выделяющейся при гидролизе макроэргической связи в 1,3-дифосфоглицерате происходит перенос отщепляемого фосфатного остатка на АДФ и образование молекулы АТФ. Эта реакция обратима. Фермент, катализирующий эту реакцию, называется *фосфоглицераткиназа* (по обратной реакции).



Далее под действием фермента *фосфоглицератмутаза* 3-фосфоглицерат изомеризуется в 2-фосфоглицерат:

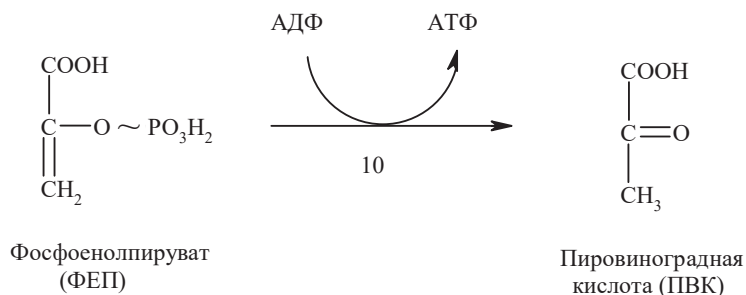


Девятая стадия – дегидратация 2-фосфоглицерата. Эту обратимую реакцию катализирует фермент *енолаза*:



Результатом является образование сложного эфира фосфорной кислоты и енольной формы пирувата, называемого фосфоенолпируватом. Фосфоенолпируват содержит макроэргическую связь. Энергия, выделяющаяся при гидролизе этой связи, используется на следующей стадии для синтеза АТФ.

Десятая стадия является реакцией субстратного фосфорилирования. Катализирует ее пируваткиназа:



Перенос фосфатного остатка с молекулы фосфоенолпирувата на АДФ (с образованием АТФ) приводит, однако, к освобождению не енолпирувата, а его более стабильного кето-изомера – пирувата. Это делает пируваткиназную реакцию необратимой, энергетически подкрепляя ее.

При аэробных условиях пируват проникает в митохондрии, где полностью окисляется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Если содержание кислорода недостаточно, как это может иметь место в активно сокращающейся мышце, пируват превращается в лактат:



Подводя итог рассмотрению химизма процесса гликолиза, остановимся еще раз на его основных особенностях.

1. В гликолизе независимо от того, протекает он по анаэробному или аэробному пути, можно выделить два основных этапа.

Реакции 1–5 составляют первый этап гликолиза, суть которого – превращение стабильной молекулы глюкозы в две молекулы более реакционноспособного фосfogлицеральдегида. На этом этапе гликолиза расходуются две молекулы АТФ.

Второй этап гликолиза включает реакции, приводящие к превращению фосfogлицеральдегида в пируват или лактат (соответственно реакции 6–10 или 6–11). Эти реакции связаны с синтезом АТФ;

2. Большинство гликолитических реакций обратимо, за исключением трех (реакции 1, 3 и 10);

3. Все промежуточные соединения находятся в фосфорилированной форме. Источником фосфатной группы в реакциях фосфорилирования являются АТФ (реакции 1, 3) или  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (реакция 6);

4. Регенерация  $\text{NAD}^+$ , необходимого для окисления новых молекул фосfogлицеральдегида, происходит при аэробном гликолизе посредством дыхательной цепи. При этом водород транспортируется из цитозоля в митохондрии с помощью челночного механизма.

При анаэробном гликолизе  $\text{NAD}^+$  регенерируется в реакции восстановления пирувата в лактат, сопряженного с окислением  $\text{NADH}_2$ .

5. Образование АТФ при гликолизе может идти двумя путями: либо субстратным фосфорилированием, когда для образования АТФ из АДФ и  $\text{H}_3\text{PO}_4$  используется энергия макроэргической связи субстрата (реакции 7, 9), либо путем окислительного фосфорилирования за счет энергии переноса электронов и протонов в дыхательной цепи.

### 3.3.2. Расчет выхода АТФ при анаэробном окислении глюкозы

Клетки, недостаточно снабжаемые кислородом, могут частично или полностью существовать за счет энергии гликолиза. В анаэробных условиях гликолиз

является единственным способом получения энергии для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата. На рис. 15 показаны участки гликолиза, на которых расходуется и образуется АТФ.

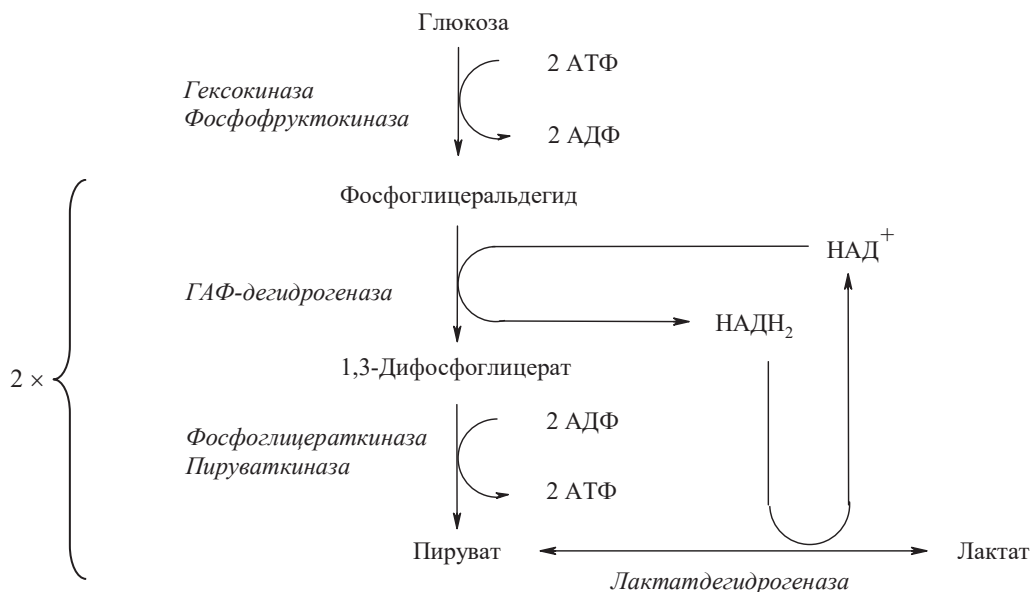


Рис. 15. Участки гликолиза, связанные с затратой и образованием АТФ в анаэробных условиях

2 молекулы АТФ потребляются на активацию одной молекулы глюкозы (реакции 1 и 3).

В результате превращений каждого из двух  $C_3$ -фрагментов в реакциях субстратного фосфорилирования (реакции 7 и 10) образуются 2 молекулы АТФ.

НАДН<sub>2</sub>, который образуется в ходе окисления фосфоглицеральдегида на пятой стадии, окисляется в лактатдегидрогеназной реакции с образованием молочной кислоты и в получении АТФ не участвует.

Таким образом, выигрыш энергии в анаэробных условиях составляет 2 моль АТФ на моль глюкозы:

реакция 1	−1 АТФ	−1 АТФ	} 2 молекулы триозы
реакция 3	−1 АТФ	−1 АТФ	
реакция 6	+1 НАДН <sub>2</sub>	+3 АТФ	
реакция 7	+1 АТФ	+1 АТФ	
реакция 10	+1 АТФ	+1 АТФ	
реакция 11	−1 НАДН <sub>2</sub>	−3 АТФ	

Итого:  $-2 + 2 \times (3 + 1 + 1 - 3) = 2$  АТФ.



### 3.3.3. Расчет выхода АТФ при аэробном окислении

Большинство животных и растительных клеток в норме находится в аэробных условиях, и глюкоза полностью окисляется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

При наличии в клетке кислорода  $\text{НАДН}_2$ , возникающий на 6-й стадии, направляется в митохондрии на процесс окислительного фосфорилирования. Там его окисление сопровождается синтезом 3 молекул АТФ.

Образовавшийся в гликолизе пируват в аэробных условиях под действием пируватдегидрогеназного комплекса превращается в ацетил-SКоА, при этом образуется 1 молекула  $\text{НАДН}_2$ .

Ацетил-SКоА вовлекается в цикл Кребса и, окисляясь, дает 3 молекулы  $\text{НАДН}_2$ , 1 молекулу  $\text{ФАДН}_2$  и 1 молекулу ГТФ. При окислении  $\text{НАДН}_2$  и  $\text{ФАДН}_2$  в дыхательной цепи образуется еще 11 молекул АТФ. В целом при сгорании 1 ацетильного остатка образуется 12 молекул АТФ.

Суммируя «гликолитический» АТФ, результаты окисления «гликолитического» и пируватдегидрогеназного  $\text{НАДН}_2$ , энергетический выход цикла Кребса и умножая все на 2, получаем 38 молекул АТФ:

реакция 1	-1 АТФ	-1 АТФ	} 2 молекулы триозы
реакция 3	-1 АТФ	-1 АТФ	
реакция 6	+1 $\text{НАДН}_2$	+3 АТФ	
реакция 7	+1 АТФ	+1 АТФ	
реакция 10	+1 АТФ	+1 АТФ	
ПВК-дегидрогеназа	+1 $\text{НАДН}_2$	+3 АТФ	
ЦТК	+1 ГТФ	+1 АТФ	
ЦТК	+3 $\text{НАДН}_2$	+9 АТФ	
ЦТК	+1 $\text{ФАДН}_2$	+2 АТФ	

Итого:  $-2 + 2 \times (3 + 1 + 1 + 3 + 1 + 9 + 2) = 38$  АТФ.

Очевидно, что в энергетическом отношении полное расщепление глюкозы является более эффективным процессом, чем анаэробный гликолиз (рис. 16).

Однако мембрана митохондрий непроницаема для  $\text{НАДН}_2$ , поэтому перенос водорода с цитозольного  $\text{НАДН}_2$  в митохондрии осуществляется за счет челночного транспорта. Суть этого механизма сводится к тому, что  $\text{НАДН}_2$  в цитозоле восстанавливает некоторое соединение, способное проникать в митохондрию. В митохондрии это соединение окисляется, восстанавливая внутримитохондриальный  $\text{НАД}^+$ , и вновь переходит в цитозоль. В качестве челнока работает глицеролфосфатный механизм или малат-аспартатная система (рис. 17, 18).

Если перенос водорода с  $\text{НАДН}_2$  происходит за счет глицеролфосфатного механизма, то реальное количество синтезируемых молекул АТФ меньше, так как энергия расходуется на транспорт  $\text{НАДН}_2$  из цитозоля через митохондриальную мембрану. Цитозольный  $\text{НАДН}_2$  сначала реагирует с цитозольным дигидроксиацетонфосфатом, образуя глицерол-3-фосфат, который легко проникает через мембрану

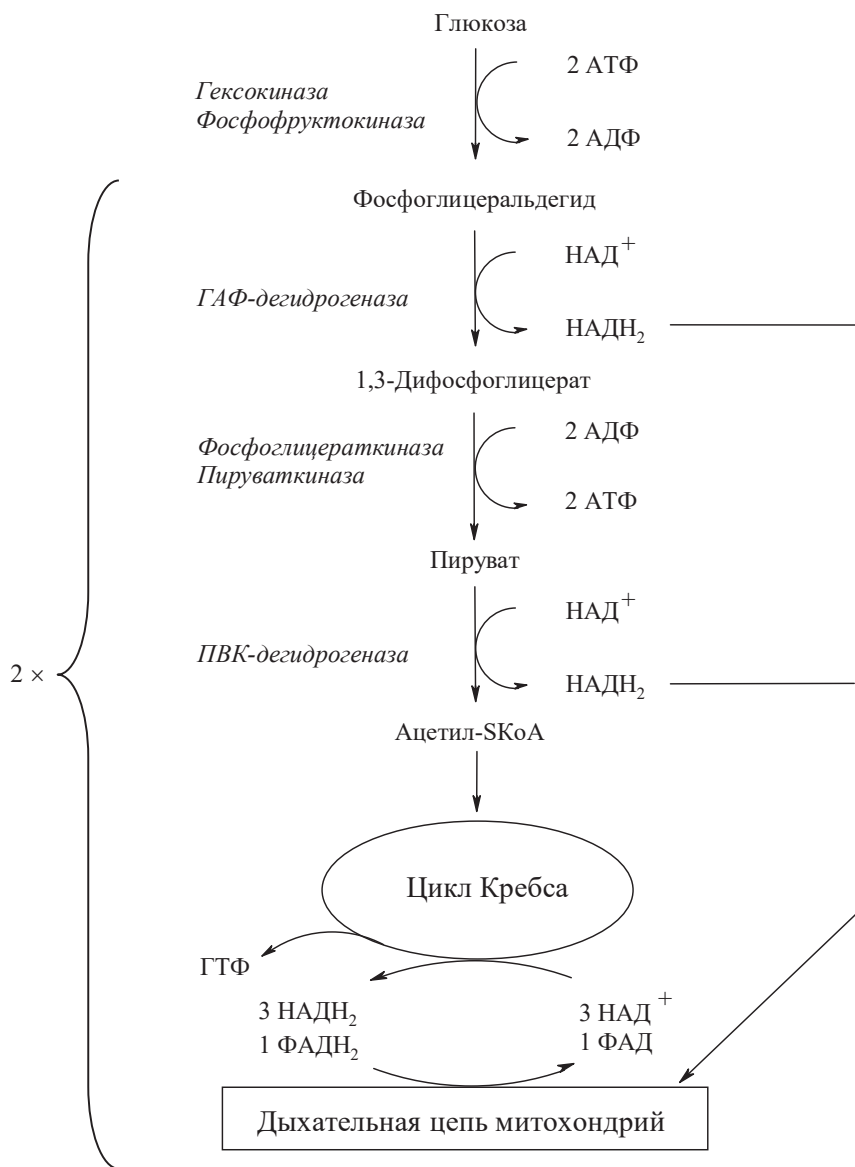


Рис. 16. Участки аэробного окисления глюкозы, связанные с затратой и образованием АТФ

митохондрии. Внутри митохондрии глицерол-3-фосфат окисляется до диоксиацетонфосфата с участием не НАД, а ФАД-зависимой глицерол-3-фосфат-дегидрогеназы. Восстановленный флавопротеин (фермент-ФАДН<sub>2</sub>) вводит приобретенные им электроны в дыхательную цепь на уровне КоQ. Таким образом, пара электронов (из одной молекулы цитозольного НАДН<sub>2</sub>), вводимая в дыхательную цепь с помощью глицеролфосфатного челночного механизма, дает не 3, а 2 АТФ и общий энергетический выход составляет не 38, а 36 молекул АТФ.

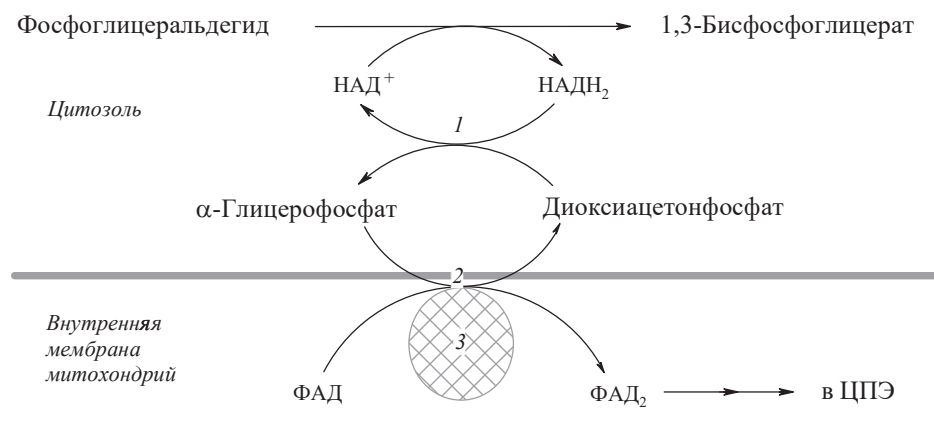


Рис. 17. Глицеролфосфатный челнок:

1, 2 – окислительно-восстановительные реакции, обеспечивающие транспорт водорода из цитозоля в митохондрии на дыхательную цепь; 3 – ФАД-зависимая глицеролфосфатдегидрогеназа

С помощью данного челночного механизма перенос восстановленных эквивалентов от цитозольного НАДН<sub>2</sub> в митохондрии осуществляется лишь в скелетных мышцах и мозге.

В клетках печени, почек и сердца действует более сложная малат-аспартатная челночная система (см. рис. 18).

Действие такого челночного механизма становится возможным благодаря присутствию малатдегидрогеназы и аспаратаминотрансферазы как в цитозоле, так и в митохондриях. Цитозольный НАДН<sub>2</sub> восстанавливает оксалоацетат до малата при участии фермента малатдегидрогеназы.

Малат с помощью системы, транспортирующей дикарбоновые кислоты, проходит через внутреннюю мембрану митохондрии в матрикс. Здесь малат за счет внутримитохондриального НАД<sup>+</sup> окисляется в оксалоацетат, а восстановленный НАДН<sub>2</sub> передает свои электроны в цепь дыхательных ферментов.

В свою очередь, образовавшийся оксалоацетат в присутствии глутамата и фермента АСТ вступает в реакцию трансаминирования. Образующиеся аспарат и α-кетоглутарат с помощью специальных транспортных систем способны проходить через мембрану митохондрий. Трансаминирование в цитозоле регенерирует оксалоацетат, что вызывает к действию следующий цикл.

В целом процесс включает легкообратимые реакции, происходит без потребления энергии, в результате полного окисления одной молекулы глюкозы может образоваться не 36, а 38 молекул АТФ.

При переходе от анаэробных условий к аэробным накопление лактата в клетке прекращается в связи с его окислением в пируват. Первым это явление отметил Л. Пастер, сформулировав тезис о том, что с началом дыхания (т. е. потребления кислорода) брожение останавливается. Он определял брожение как жизнь без доступа кислорода.

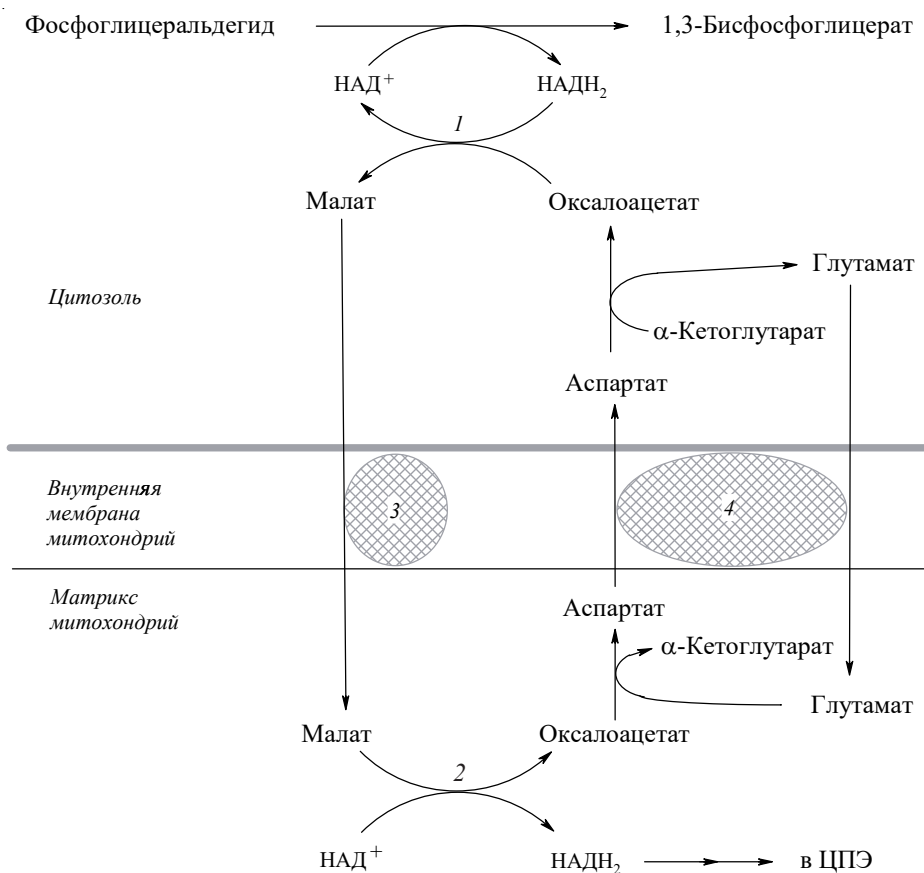


Рис. 18. Малат-аспартатный челнок:

1, 2 – окислительно-восстановительные реакции, обеспечивающие транспорт водорода из цитозоля в митохондрии на дыхательную цепь; 3, 4 – транслоказы, обеспечивающие транспорт малата, аспартата и глутамата через мембрану митохондрий

Механизм эффекта Пастера (блокирование брожения дыханием, сопровождаемое резким падением скорости утилизации глюкозы) объясняется тем, что в присутствии кислорода  $\text{NADH}_2$  и пируват сразу после их образования утилизируются митохондриями. При переключении на аэробное окисление происходит убыль ранее накопленного лактата. Утилизация лактата, накопившегося в период дефицита кислорода, лежит в основе явления, которое получило название «ликвидация кислородной задолженности». Суть этого явления состоит в том, что после интенсивной мышечной работы легочное дыхание не сразу возвращается к норме, а некоторое время остается усиленным. Избыточное потребление кислорода в этот период определяется количеством лактата, накопившегося во время работы, недостаточно обеспеченной кислородом.

Таким образом, в отсутствие или при недостатке кислорода лактат *не может образоваться*, а при достаточном снабжении кислородом он *не может образоваться* (рис. 19).

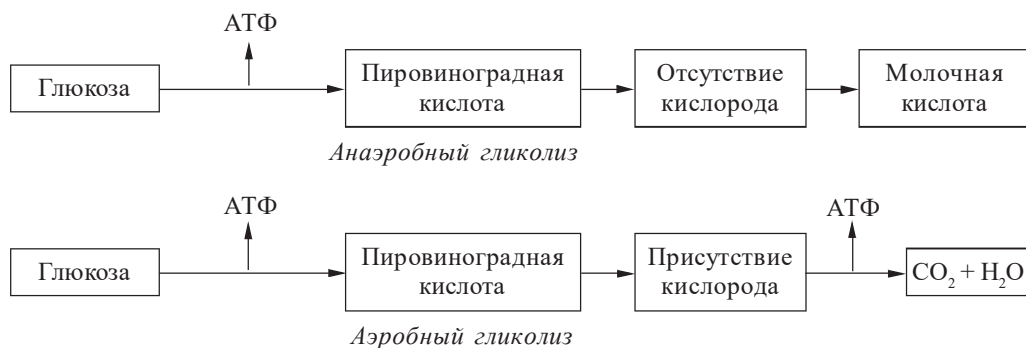


Рис. 19. Схемы аэробного и анаэробного гликолиза

В ряде случаев выработка лактата может происходить в аэробных условиях. В частности, он может образовываться в аэробных условиях в злокачественных опухолях. Причины отсутствия эффекта Пастера в раковых клетках до сих пор не выяснены. Эритроциты также вырабатывают лактат в обычных аэробных условиях. Это связано с отсутствием митохондрий в этих клетках и, как следствие, невозможностью утилизации восстановленных коферментов и пирувата. Поэтому эритроциты обеспечивают себя энергией только за счет двух молекул АТФ, образующихся в реакции субстратного фосфорилирования (7-я стадия).

## Вопросы для проверки усвоения материала

1. Углеводы: определение, классификация, биологическое значение. Моносахариды: классификация, важнейшие представители, химические свойства. Изомерия моносахаридов (на примере глюкозы и фруктозы), биологическое значение.
2. Дисахариды и полисахариды: важнейшие представители, химические свойства, биологическое значение.
3. Пути обмена глюкозо-6-фосфата в клетке: гликолиз, глюконеогенез, пентозофосфатный путь, синтез гликозаминогликанов, синтез и распад гликогена, сущность и биологическое значение.
4. Реакции гликолиза, ферменты, регуляция. Аэробный и анаэробный гликолиз, энергетический баланс. Брожение, сходство с гликолизом и отличие от него.
5. Пути обмена пировиноградной и молочной кислот в различных тканях, цикл Кори. Связь обмена углеводов с циклом Кребса, обменом липидов и аминокислот. Роль гормонов и нервной системы в регуляции углеводного обмена.

## Письменное домашнее задание

### Обязательное

1. Напишите структурные формулы 4 циклических форм *D*-рибозы и ее производных – спирта *D*-рибитола, *D*-рибоновой кислоты и *D*-2-дезоксирибозы. Какие

типы реакций приводят к образованию указанных соединений? Каково биологическое значение рибозы и дезоксирибозы?

2. Рафиноза –  $\alpha$ -D-галактопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-фруктофуранозид – резервный трисахарид растений, в больших количествах содержится в бобовых и сахарной свекле, но не обладает сладким вкусом. При гидролизе, катализируемом ферментом  $\alpha$ -галактозидазой, из рафинозы образуется дисахарид, сладкий на вкус. Напишите структурную формулу рафинозы. Определите, данный трисахарид является восстанавливающим или невосстанавливающим. Напишите уравнение реакции гидролиза и назовите ее продукты.

3. В организме человека метаболизм фруктозы происходит путем фосфорилирования с затратой АТФ, образовавшийся фруктозо-6-фосфат включается в гликолиз. Напишите схему и рассчитайте энергетический баланс полного окисления фруктозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

4. К культуре клеток печени добавили препарат глюкозы, меченый радиоактивным изотопом  $^{14}\text{C}$  по 6-му атому углерода. Через некоторое время максимальное накопление радиоактивного изотопа было зарегистрировано в цитоплазме клеток. Указанный опыт повторили, добавив к культуре клеток вещество – стимулятор митоза. В этих условиях большая часть введенной активности была сосредоточена в ядрах клеток. Как можно объяснить наблюдавшуюся закономерность, зная пути метаболизма глюкозы в клетке? В каких еще веществах могут быть обнаружены меченые атомы углерода?

#### Д о п о л н и т е л ь н о е

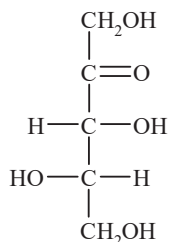
1. В клубнях ряда растений содержится полимер  $\beta$ -D-фруктопиранозы инулин, при гидролизе которого образуется рафтилоза – олигосахарид, содержащий не более 10 фруктозных звеньев. Напишите структурную формулу рафтилозы, содержащей 3 мономера, соединенных  $\beta$ (2 $\rightarrow$ 1)-гликозидными связями, и дайте ей систематическое название. Определите, данный трисахарид является восстанавливающим или невосстанавливающим.

2. К культуре клеток печени добавили препарат молочной кислоты, меченый радиоактивным изотопом  $^{14}\text{C}$  по атому углерода карбоксильной группы. При обработке культуры гормоном № 1 радиоактивная метка на короткое время концентрировалась в митохондриальной фракции, а затем длительно фиксировалась в цитозоле. При обработке культуры гормоном № 2 метка попадала в митохондрии и покидала их только в виде  $\text{CO}_2$ . Какие гормоны использовались в 1 и 2 случаях? Как можно объяснить наблюдавшиеся закономерности, зная пути обмена лактата в печени?

### Типовой вариант тестового контроля по теме «Обмен углеводов»

**Инструкция:** при отсутствии дополнительных указаний в вопросе теста выберите один верный вариант ответа.

1. Укажите особенности строения моносахарида:



- а) кетоза, пентоза, *D*-изомер;
- б) альдоза, пентоза, *L*-изомер;
- в) кетоза, гексоза, *L*-изомер;
- г) альдоза, гексоза, *D*-изомер;
- д) кетоза, пентоза, *L*-изомер.

2. Выберите восстанавливающий дисахарид, состоящий из галактозы и глюкозы:

- а) мальтоза;
- б) сахароза;
- в) лактоза;
- г) целлобиоза;
- д) рафиноза.

3. Укажите биологическую роль крахмала:

- а) структурный полисахарид растений;
- б) резервный полисахарид животных;
- в) структурный полисахарид животных;
- г) резервный полисахарид растений;
- д) структурный полисахарид членистоногих.

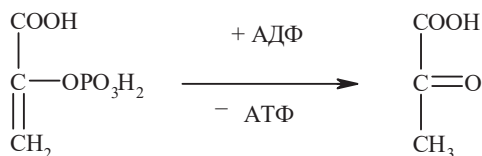
4. Какая химическая реакция происходит с глюкозой при кипячении с реактивом Фелинга:

- а) окисление;
- б) восстановление;
- в) гидролиз;
- г) образование фосфорного эфира;
- д) образование гликозида.

5. Выберите группу веществ – субстратов глюконеогенеза:

- а) ацетилкоэнзим А и этанол;
- б) глицерин и лактат;
- в) кетогенные аминокислоты и холестерин;
- г) жирные кислоты и кетоновые тела;
- д) глюкоза и гликоген.

6. Дайте название ферменту, катализирующему следующую реакцию:



- а) гексокиназа;
- б) фосфофруктокиназа;
- в) фосфоглицератмутаза;
- г) пируваткиназа;
- д) лактатдегидрогеназа.

7. Какие процессы обеспечивают поддержание физиологических концентраций глюкозы в крови при голодании:

а) секреция инсулина снижается, что активирует распад гликогена и глюконеогенез;

б) секреция инсулина повышается, что активирует гликолиз и синтез гликогена;

в) секреция инсулина снижается, что ингибирует распад гликогена и глюконеогенез;

г) секреция инсулина повышается, что ингибирует гликолиз и синтез гликогена.

8. Укажите конечные продукты анаэробного гликолиза в расчете на 1 моль глюкозы:

а) 1 моль лактата и 38 молей АТФ;

б) 2 моля лактата и 19 молей АТФ;

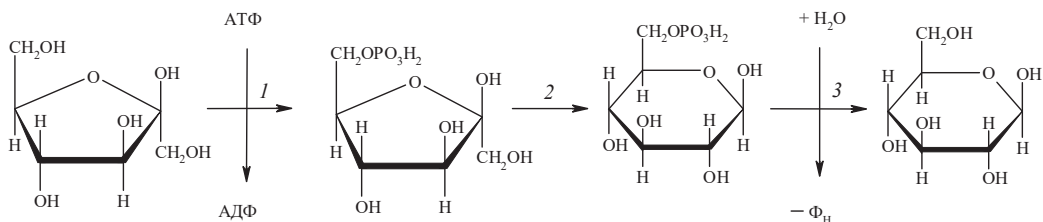
в) 1 моль лактата и 19 молей АТФ;

г) 2 моля лактата и 2 моля АТФ;

д) 1 моль лактата и 1 моль АТФ.

9. Вставьте пропущенные слова (3 ответа) в предложение: «...путь обмена глюкозы обеспечивает клетку ... для реакций восстановления и рибозо-5-фосфатом для биосинтеза ...»

10. Напишите названия и номера классов ферментов (6 ответов), катализирующих реакции 1, 2 и 3:





## Раздел 4

# ОБМЕН ЛИПИДОВ

### 4.1. Биологическая роль липидов

Липиды представляют собой разнородную по химическому строению группу природных органических соединений, плохо растворимых в воде и хорошо растворимых в неполярных растворителях. Они играют важную роль в жизнедеятельности клетки:

- являются важнейшим компонентом биологических мембран, состояние которых определяет метаболизм клетки;
- обеспечивают запас питательных веществ;
- выполняют энергетическую функцию (при окислении 1 г липидов выделяется 9,3 ккал);
- осуществляют регуляторную и теплоизолирующую функции.

В липидах человека обнаруживается большое разнообразие жирных кислот. Источниками жирных кислот организма служат липиды пищи и синтез жирных кислот из углеводов. Основные пути превращения жирных кислот приведены на следующей схеме:



- включаются в состав резервных жиров;
- включаются в состав сложных липидов;
- окисляются до диоксида углерода и воды с извлечением энергии для синтеза АТФ.

Основная масса липидов пищи представлена триацилглицеридами (жирами). Потребность в жирах составляет 50–100 г/сутки в зависимости от характера питания и энергетических затрат. Переваривание липидов происходит главным образом в тонкой кишке под действием ферментов липаз. В ротовой полости и желудке эти процессы не идут. Липаза расщепляет триацилглицериды в среде, близкой к нейтральной, поэтому она практически неактивна в желудке из-за низких значений pH. В 12-перстной кишке пища подвергается воздействию желчи и сока поджелудочной кислоты. В 12-перстную кишку тонкого отдела кишечника с соком поджелудочной железы также поступает липаза в виде неактивной формы – пролипазы. С желчью туда же поступают желчные кислоты, под действием которых липаза активируется. На первом этапе происходит процесс эмульгирования липидов с участием желчных кислот, которые поступают в кишечник в составе желчи. Желчные кислоты ориентируются на каплях жира, что приводит к уменьшению поверхностного натяжения и дроблению их на более мелкие:



На поверхности таких мелких капель адсорбируется липаза и гидролизует эфирные связи в молекулах триацилглицеридов. В результате от глицерина отщепляются поочередно остатки жирных кислот. Высвобождающиеся жирные кислоты усиливают эмульгирование жиров. Желчные кислоты образуют комплекс с жирными кислотами и моноацилглицеринами, который легко проникает в клетки слизистой оболочки кишечника. В толще слизистой желчные кислоты отщепляются от жирных кислот и с портальным кровотоком поступают обратно в печень, где вновь включаются в состав желчи.

Основные продукты переваривания – жирные кислоты,  $\beta$ -моноацил-глицерины и частично свободный глицерин – всасываются стенкой тонкой кишки, и там происходит образование тех жиров, которые свойственны организму человека (ресинтез жиров):



Новосинтезированные триацилглицерины, фосфолипиды и другие всосавшиеся липиды покидают клетки слизистой, попадая сначала в лимфу, а с током лимфы – в кровь. Поскольку эти вещества нерастворимы в водной среде, то они переносятся в комплексе с белками, образуя липопротеиды (табл. 6). В кишечнике ресинтезированные триацилглицерины включаются в состав хиломикронов. Ядро этих частиц составляют триацилглицерины и эфиры холестерина, оболочку – комплекс из фосфолипидов, белков и свободного холестерина. В составе хиломикронов экзогенные жиры доставляются в органы и ткани. Потребление экзогенных жиров тканями обеспечивает фермент липопротеинлипаза. Этот фермент локализуется в эндотелии сосудов и катализирует реакцию гидролиза триацилглицеринов в составе хиломикронов до глицерина и жирных кислот. В результате действия липопротеинлипазы хиломикроны уменьшаются в размерах и превращаются в так называемые ремнантные (остаточные) хиломикроны, которые захватываются из кровотока печенью, где они распадаются окончательно.

Основными потребителями жирных кислот являются жировая и мышечная ткани, которые используют жирные кислоты как энергетическое топливо или строительный материал.

Липопротеины крови человека

Липо- протеины	Плотность, г/мл	Молеку- лярная масса	Диа- метр, нм	Кон- цент- рация в крови, г/л	Основной компонент	Место синтеза	Функция
Хиломикроны	0,95	1–10 млрд	30–500	1–2	Триацил- глицерины	Тонкая кишка	Транспорт ТГ из кишки в ткани
ЛПОНП (пре-β)	0,95–1,00	5–100 млн	30–75	1–1,5	Триацил- глицерины	Печень	Транспорт ТГ из печени в ткани
ЛПНП (β)	1,00–1,06	2–4 млн	20–25	2–4	Холестерин	Кровь	Транспорт холестерина в ткани
ЛПВП (α)	1,06–1,21	200–400 тыс.	10–15	1–3	Белок и фосфо- липиды	Печень	Транспорт холестерина из тканей в печень

### 4.3. Депонирование жиров

Жиры, как и гликоген, являются формами депонирования энергии, причем жиры – более эффективные источники энергии. При голодании запасы жира у человека истощаются за 5–7 недель, тогда как гликоген полностью расходуется примерно за сутки. Если поступление жира превышает потребности организма в энергии, то жир депонируется в специализированных клетках жировой ткани – адипоцитах. Если же количество поступающих углеводов больше, чем необходимо для депонирования в виде гликогена, то часть глюкозы тоже превращается в жиры.

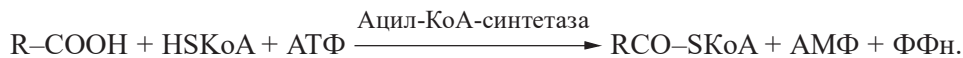
Таким образом, жиры в жировой ткани накапливаются в результате двух процессов:

- синтеза из жирных кислот, образующихся в результате липолиза триглицеридов в составе хиломикронов и липопротеинов очень низкой плотности ферментом липопротеинлипазой;
- синтеза из глюкозы, при метаболизме которой в клетках жировой ткани образуются глицеролфосфат и жирные кислоты.

### 4.4. Окисление жирных кислот

Жирные кислоты играют важную роль в качестве источника энергии в организме. Главный путь окисления жирных кислот – β-окисление, названное так потому что окислению подвергается β-углеродный атом остатка жирной кислоты.

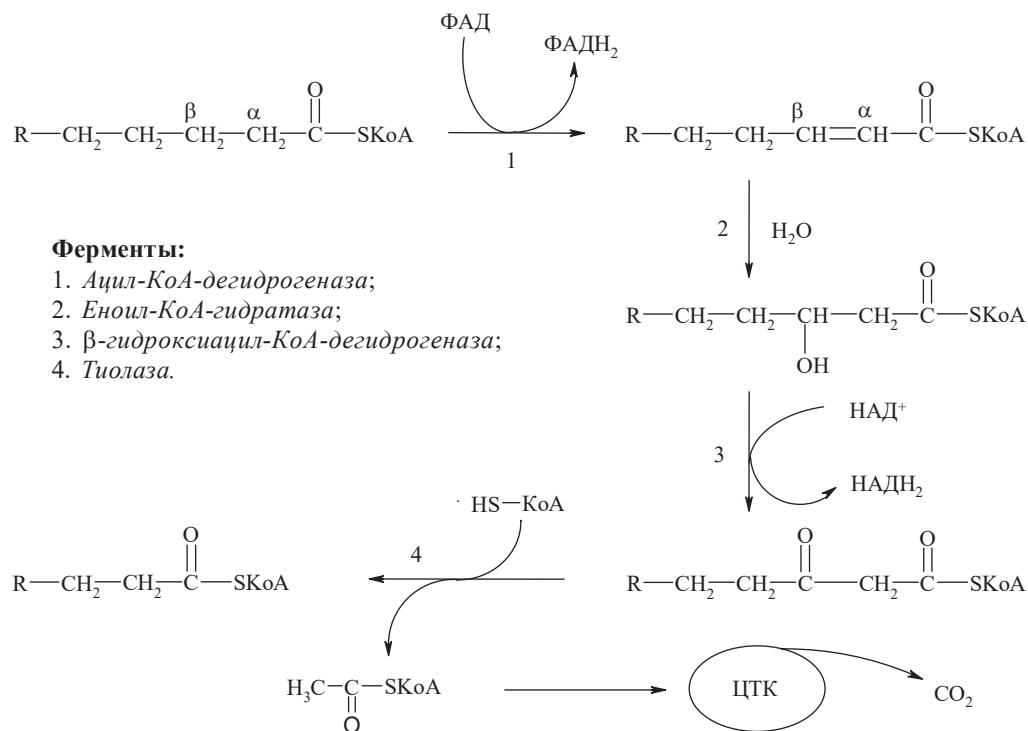
$\beta$ -Окисление протекает в митохондриях клетки, а жирная кислота поступает из кровотока в цитозоль, где активируется путем присоединения КоА к ЖК с образованием ацил-КоА:



Мембрана митохондрий непроницаема для ЖК даже в активированной форме, поэтому ацил-КоА соединяется со специальным переносчиком карнитином. Образуется ацилкарнитин, который проникает в митохондрии, где вновь распадается на карнитин и ацил-КоА.

Собственно процесс  $\beta$ -окисления (цикл Кноопа – Линена) – спиральный метаболический путь, каждый оборот которого приводит к укорачиванию остатка жирной кислоты на 2 атома углерода, включает 4 стадии (рис. 20):

1. *Окисление* – дегидрирование ацил-КоА до дегидроацил-КоА с участием ФАД-зависимой дегидрогеназы;
2. *Гидратация* – присоединение к дегидроацил-КоА воды в  $\beta$ -положении с образованием гидрооксиацил-КоА при участии гидратазы;
3. *Окисление* – дегидрирование гидрооксиацил-КоА до  $\beta$ -кетоксиацил-КоА при участии НАД-зависимой дегидрогеназы;
4. *Тиолиз* – расщепление тиосвязи при участии тиолазы с образованием ацил-КоА и ацетил-КоА.



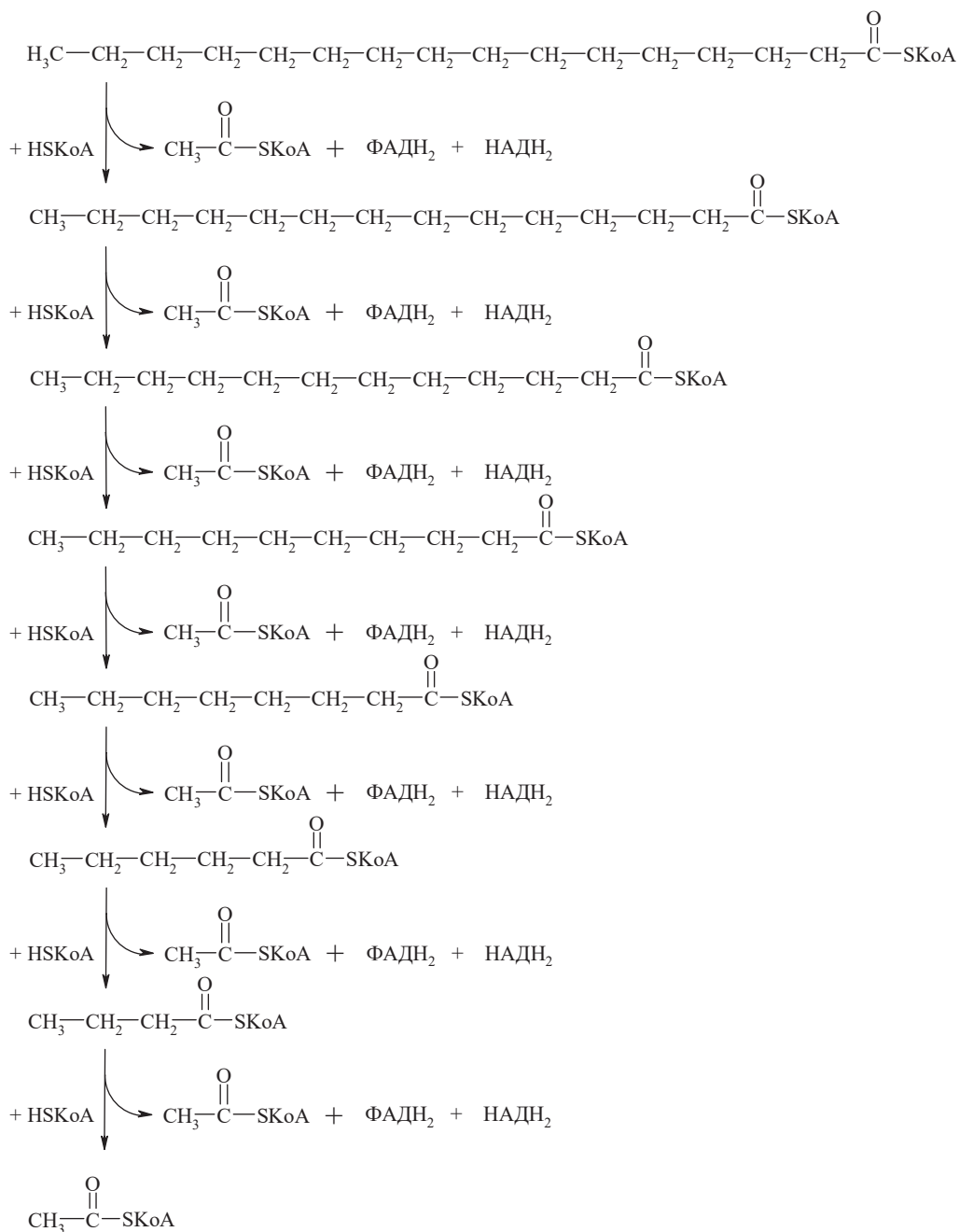
#### Ферменты:

1. Ацил-КоА-дегидрогеназа;
2. Еноил-КоА-гидратаза;
3.  $\beta$ -гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа;
4. Тиолаза.

Рис. 20.  $\beta$ -Окисление жирных кислот

В результате четырех последовательных реакций  $\beta$ -окисления происходит отщепление двухуглеродного фрагмента и перенос его на кофермент А с образованием ацетил-КоА, который затем может включаться в цикл Кребса для полного окисления. Укороченная ацильная цепь (ацил-КоА) вновь вступает в цикл  $\beta$ -окисления, начиная с реакции, катализируемой ацил-КоА-дегидрогеназой.

Ниже показано окисление пальмитиновой кислоты:



Окисление пальмитиновой кислоты ( $C_{16}$ ) происходит путем последовательного удаления двухуглеродных фрагментов с карбоксильного конца жирной кислоты, в результате 7 циклов  $\beta$ -окисления образуется 8 молекул ацетил-КоА.

#### 4.5. Энергетический выход $\beta$ -окисления жирных кислот

Данный выход зависит от длины углеводородной цепи. Чтобы подсчитать энергетический выход  $\beta$ -окисления конкретной жирной кислоты, надо знать количество циклов  $\beta$ -окисления и количество молекул ацетил-КоА.

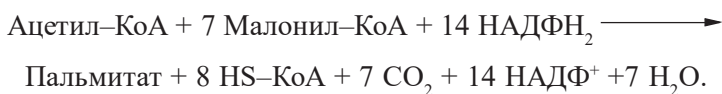
В каждом цикле  $\beta$ -окисления ацил-КоА укорачивается на 2 атома углерода и образуется 1 молекула ацетил-КоА. Поэтому число образующихся молекул ацетил-КоА равно половине числа атомов углерода в ацил-КоА. Окисление каждой молекулы ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот обеспечивает синтез 12 молекул АТФ. В каждом цикле  $\beta$ -окисления образуется 1 молекула ФАДН<sub>2</sub> и 1 молекула НАДН<sub>2</sub>, при окислении которых в дыхательной цепи синтезируется соответственно 2 и 3 молекулы АТФ (всего 5 молекул). В последнем цикле  $\beta$ -окисления образуется сразу 2 молекулы ацетил-КоА. Поэтому для полного превращения остатка жирной кислоты в ацетил-КоА необходимо на единицу меньше циклов  $\beta$ -окисления, чем половинное число атомов углерода в ацил-КоА.

Например, у пальмитиновой кислоты ( $C_{16}$ ) происходит 7 циклов  $\beta$ -окисления, в результате которых образуется 8 молекул ацетил-КоА, 7 молекул ФАДН<sub>2</sub> и 7 молекул НАДН<sub>2</sub>. Следовательно, выход АТФ составляет 35 АТФ в результате  $\beta$ -окисления и 96 АТФ цитратного цикла, что составляет в сумме 131 молекулу АТФ. Учитывая тот факт, что одна молекула АТФ затрачивается на активацию жирной кислоты, суммарный выход АТФ составляет 130 молекул.

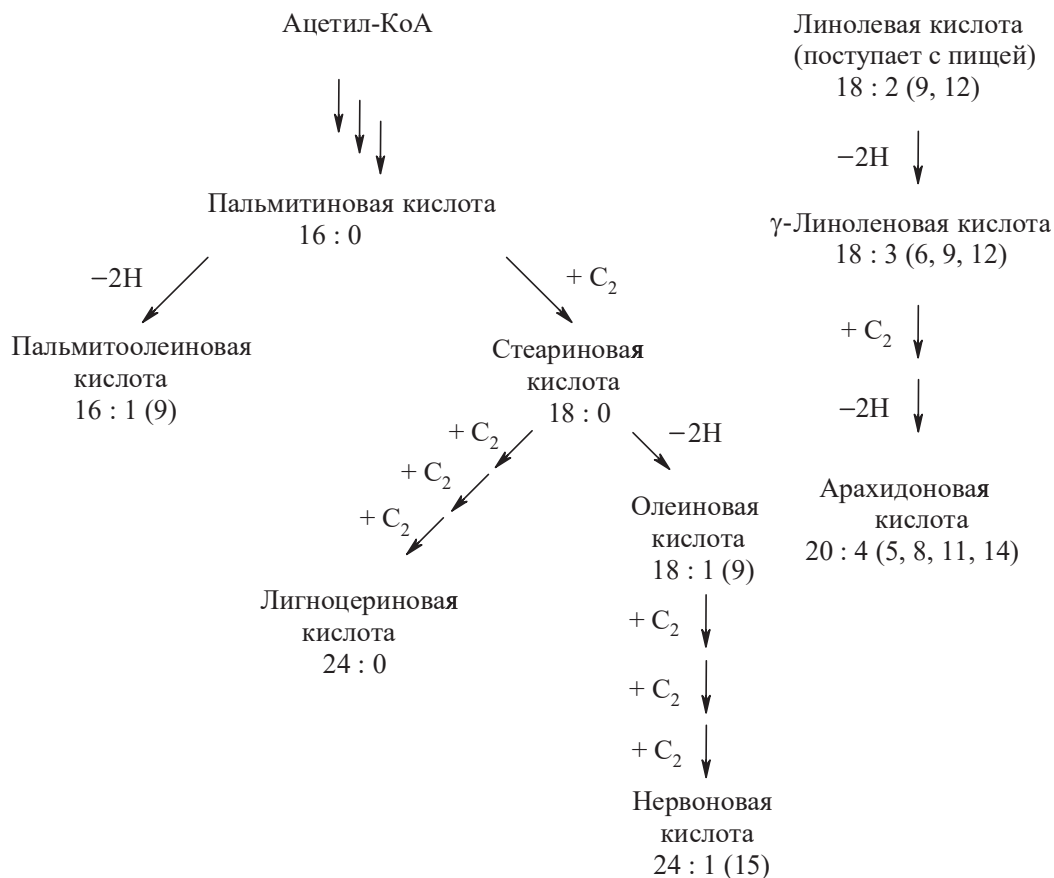
#### 4.6. Биосинтез жирных кислот

Наряду с окислением жирных кислот в клетках функционирует процесс их синтеза. Основным местом синтеза жирных кислот является цитозоль, в отличие от  $\beta$ -окисления, которое происходит в митохондриях.

Непосредственным предшественником жирных кислот служит малонил-КоА. Это соединение синтезируется путем присоединения углекислого газа к ацетил-КоА, который поступает из митохондрий. Основным продуктом синтеза является пальмитиновая кислота. Центральную роль в синтезе жирных кислот играет фермент пальмитатсинтетаза (синтетаза жирных кислот), который катализирует серию реакций. Суммарное уравнение синтеза пальмитиновой кислоты включает 7 циклов:



Пальмитиновая кислота служит предшественником других жирных кислот организма. Удлинение углеродной цепи происходит за счет дополнительного присоединения ацетил-КоА или малонил-КоА, при помощи других ферментов, имеющих как в цитозоле, так и в митохондриях. Так, присоединение к пальмитиновой кислоте ацетил-КоА и последующее восстановление  $\beta$ -карбонильной группы приводит к образованию стеариновой кислоты. Большинство непредельных жирных кислот образуется путем дегидрирования насыщенных кислот. Пути образования некоторых жирных кислот представлены на схеме:



Человек и животные не способны синтезировать из пальмитиновой жирные кислоты с двумя и более двойными связями. Поэтому линолевая, линоленовая и арахидоновая (при отсутствии линолевой) кислоты являются незаменимыми и должны обязательно поступать с пищей.



## 4.7. Биосинтез триглицеридов, фосфолипидов и холестерина

Триглицериды синтезируются на основе глицеролфосфата и ацил-КоА. На первом этапе присоединяется два ацильных фрагмента, а затем под действием фосфатазы теряется остаток фосфата и присоединяется третий ацил.

Синтез фосфолипидов происходит также из глицеролфосфата и жирных кислот, но требует дополнительно этаноламина, холина, серина или инозитола для образования полярной «головы» молекулы.

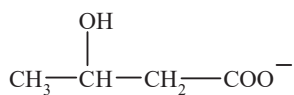
Холестерин (холестерол) синтезируется из ацетил-КоА в цитозоле клетки: 80 % – в печени, 10 % – в клетках кишечника и 5 % – в клетках кожи. Скорость синтеза холестерина зависит от количества экзогенного, т. е. поступающего с пищей, холестерина. При поступлении 2–3 г холестерина в сутки синтез эндогенного холестерина прекращается.

Из холестерина в печени образуются желчные кислоты, необходимые для переваривания липидов. В коже из холестерина синтезируется витамин  $D_3$  – регулятор кальций-фосфорного обмена. Холестерол – субстрат для синтеза стероидных гормонов: в коре надпочечников из него образуются минерало- и глюкокортикоиды, в половых железах – андрогены, эстрогены, гестагены.

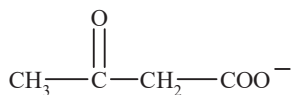
## 4.8. Синтез и распад кетоновых тел

В условиях голодания, длительной физической нагрузки и нарушения утилизации глюкозы клетками (вследствие дефицита инсулина при сахарном диабете) основным источником энергии становятся жирные кислоты, образующиеся при гидролизе триглицеридов жировой ткани. Жирные кислоты подвергаются  $\beta$ -окислению с образованием больших количеств ацетил-КоА во всех органах, кроме мозга. Оксалоацетат, необходимый для включения ацетил-КоА в ЦТК, не образуется из жирных кислот, поэтому избыток ацетил-КоА не может быстро окислиться в ЦТК. Печень обладает уникальной способностью синтезировать из больших количеств ацетил-КоА кетоновые тела.

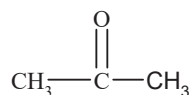
К кетоновым телам относят три соединения близкой структуры – ацетоацетат, 3-гидроксibuтират ( $\beta$ -гидроксibuтират) и ацетон:



3-Гидроксibuтират



Ацетоацетат

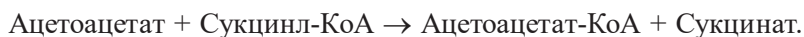


Ацетон

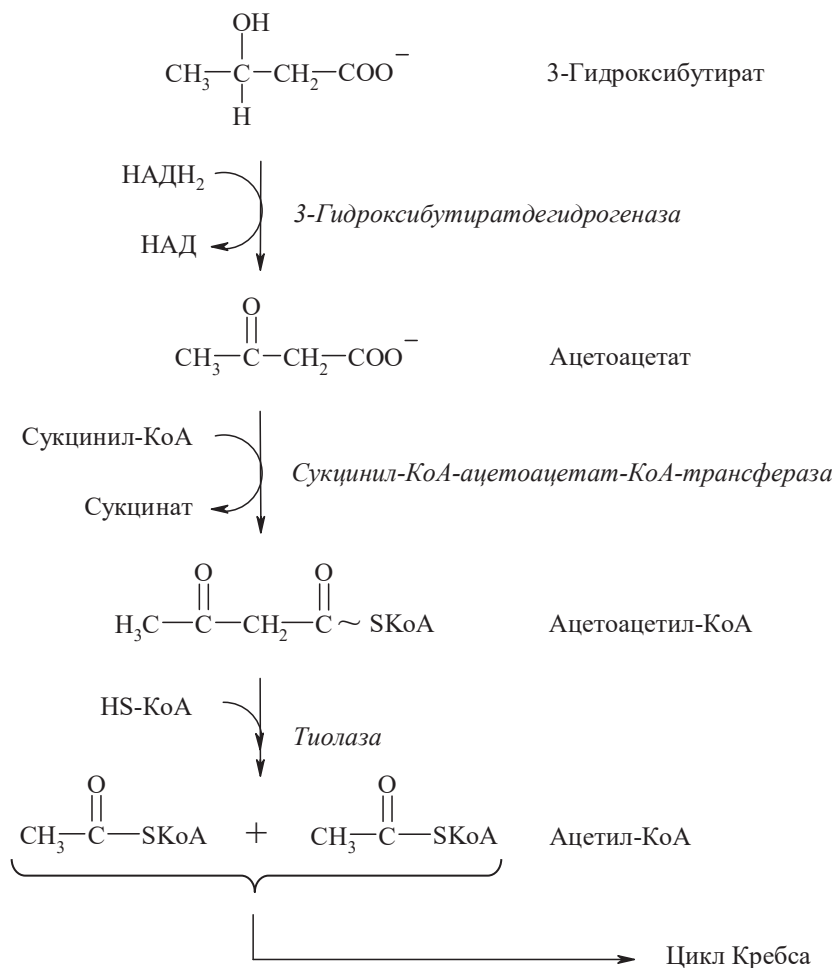
$$\begin{array}{c}
 \text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SKoA} + \text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SKoA} \quad \text{Ацетил-КоА} \\
 \downarrow \text{Тиолаза} \\
 \text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SKoA} \quad \text{Ацетоацетил-КоА} \\
 \downarrow \text{ГМГ-КоА-синтаза} \\
 \text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SKoA} \quad \text{ГМГ-КоА-синтаза} \\
 \downarrow \\
 ^-\text{OOC}-\text{CH}_2-\overset{\text{OH}}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SKoA} \quad \text{3-Гидрокси-3-метил-глутарил-КоА (ГМГ-КоА)} \\
 \downarrow \text{ГМГ-КоА-лиаза} \\
 \text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SKoA} \quad \text{ГМГ-КоА-лиаза} \\
 \downarrow \\
 \text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3 \quad \text{Ацетон} \quad \text{CO}_2 \quad \text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{COO}^- \quad \text{Ацетоацетат} \\
 \text{НАДН}_2 \quad \text{НАД}^+ \quad \text{CH}_3-\overset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{COO}^- \quad \text{3-Гидроксибутират}
 \end{array}$$

При высокой концентрации ацетоацетата часть его может необратимо декарбоксилироваться с образованием ацетона. Ацетон не утилизируется тканями и выделяется с выдыхаемым воздухом, мочой и потом, помогая организму избавиться от избытка кетоновых тел.

Реакции утилизации кетонových тел примерно совпадают с обратным направлением реакций их синтеза. В цитозоле клетки 3-гидроксibuтират окисляется, образуящийся ацетоацетат проникает в митохондрии, где активируется за счет сукцинил-КоА:



Данная реакция протекает под действием фермента сукцинил-КоА-ацетоацетаттрансферазы. Этого фермента нет в печени, поэтому печень не использует кетонové тела как источники энергии, а производит их «на экспорт». Активированный ацетоацетат далее превращается в ацетил-КоА, который сгорает в ЦТК:



Биологическая роль кетонových тел заключается в том, что эти молекулы (3-гидроксibuтират и ацетоацетат) представляют собой альтернативный источник энергии для клеток при дефиците глюкозы, выгодно отличаясь от жирных кислот малыми размерами и хорошей растворимостью в воде. В результате при голо-

дании кетоновые тела могут служить источниками энергии даже для нервной ткани, которая не способна утилизировать жирные кислоты из крови. Однако 3-гидроксибутират и ацетоацетат являются кислотами и при высокой концентрации снижают рН крови (развитие ацидоза). Ацидоз нарушает жизнедеятельность организма и может привести к смерти.

## **Вопросы для проверки усвоения материала**

1. Липиды: определение, классификация, биологические функции. Жирные кислоты: важнейшие представители, зависимость физико-химических свойств от длины и насыщенности радикала, биологические функции. Триглицериды и фосфолипиды: строение, зависимость физико-химических свойств от состава, биологическое значение. Холестерин: строение, биологическое значение.

2. Биологические мембраны: состав (липидные, углеводные и белковые компоненты) и функции. Жидкостно-мозаичная модель мембран. Транспорт веществ через мембраны. Липопроотеиды: понятие, общий план строения липопроотеидов крови, особенности состава и функции отдельных классов.

3. Пути обмена ацетилкоэнзима А в клетке: синтез и распад жирных кислот, кетоновых тел, синтез холестерина, катаболизм кетогенных аминокислот, сущность и биологическое значение.

4.  $\beta$ -окисление жирных кислот: этапы, ферменты, регуляция. Энергетический баланс окисления жирных кислот и триглицеридов. Биосинтез жирных кислот, этапы, регуляция, биологическое значение. Синтез и распад триглицеридов и фосфолипидов. Связь обмена липидов с циклом Кребса, обменом углеводов и аминокислот. Роль гормонов и нервной системы в регуляции липидного обмена.

## **Письменное домашнее задание**

### **Обязательное**

1. В составе триглицеридов жировой ткани человека преобладает олеиновая кислота. Напишите структурную формулу триглицерида 1,3-диолео-2-стеарина. Составьте схему его полного катаболизма до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , рассчитайте энергетический баланс этого процесса.

2. Напишите структурную формулу фосфолипида пальмитоиллиноленоилфосфатидилхолина. Покажите, каким образом этот фосфолипид может принимать участие в построении биологических мембран и липопроотеинов крови. Как называются фосфолипиды, содержащие аминокислот холин?

3. Молекула фосфолипида, описанного в предыдущей задаче, находится в составе частицы липопроотеина высокой плотности (ЛПВП). Под действием фермента лецитин : холестеринацилтрансферазы (ЛХАТ) остаток линоленовой кислоты переносится из молекулы фосфолипида на гидроксигруппу холестерина, а фосфолипид превращается в лизолецитин. Напишите структурные формулы холестерина,

4. К культуре клеток печени добавили пальмитиновую кислоту, меченую радиоактивным углеродом  $^{14}\text{C}$  по первому атому. Через некоторое время введенная активность была обнаружена в выделяющемся углекислом газе. Опыт повторили с предварительной обработкой гепатоцитов инсулином: радиоактивный  $\text{CO}_2$  не выделялся, введенная активность сосредоточилась в цитозоле гепатоцитов. Объясните наблюдаемые закономерности, зная пути метаболизма липидов в печени. В каких еще веществах могла быть обнаружена радиоактивная метка?

1. Большинство триглицеридов молока содержит короткоцепочечные жирные кислоты с четным числом атомов углерода: каприловую ( $C_8$ ), каприновую ( $C_{10}$ ), лауриновую ( $C_{12}$ ). Приведите схему полного катаболизма триглицерида трилаурина до  $CO_2$  и  $H_2O$ , рассчитайте энергетический баланс этого процесса.

2. Напишите структурную формулу фосфолипида стеароиларахидоноилфосфатидилсерина и покажите его участие в построении биологических мембран. Может ли быть построен липидный бислой мембраны только из молекул данного фосфолипида? Какие классы биологически активных соединений могут синтезироваться из продуктов гидролиза этого фосфолипида?

**Инструкция:** при отсутствии дополнительных указаний в вопросе теста выберите один верный вариант ответа.

$$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{O}-\underset{\begin{array}{c} | \\ \text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}^-}{\parallel}\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+ \\ || \\ \text{O} \end{array}}{\text{C}}-\text{H} \\ | \\ \text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{C}_{17}\text{H}_{35} \end{array}$$

- а) стеароиллинолеилфосфатидилэтаноламин;  
б) пальмитоилолеилфосфатидилхолин;  
в) стеароилолеилфосфатидилэтаноламин;  
г) пальмитоилолеилфосфатидилэтаноламин;  
д) стеароилолеилфосфатидилхолин.

2. Выберите классы липидов, входящих в состав биологических мембран:

- а) жирные кислоты и триглицериды;
- б) триглицериды и фосфолипиды;
- в) фосфолипиды и свободный холестерин;
- г) холестерин и его эфиры;
- д) жирные кислоты и свободный холестерин.

3. Глюкоза транспортируется через мембрану в клетку по градиенту концентрации с использованием белка-переносчика без затраты энергии АТФ. Такой тип транспорта называется:

- а) активный транспорт;
- б) вторично активный транспорт;
- в) простая диффузия;
- г) облегченная диффузия;
- д) экзоцитоз.

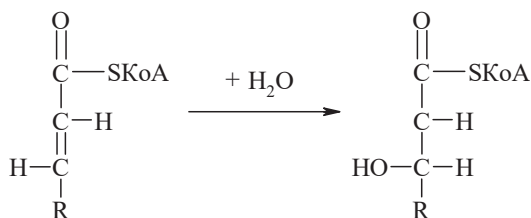
4. Какую химическую реакцию можно использовать для доказательства ненасыщенности растительного масла:

- а) омыление;
- б) гидролиз;
- в) этерификация;
- г) галогенирование;
- д) пероксидное окисление.

5. Сколько циклов  $\beta$ -окисления необходимо для полного катаболизма линолевой кислоты:

- а) 7;
- б) 8;
- в) 9;
- г) 17;
- д) 18.

6. Выберите название фермента, катализирующего следующую реакцию цикла Кноопа – Линена:



- а) ацилкоэнзим А : гидролигаза;
- б) еноилкоэнзим А : гидролизаза;
- в) ацилкоэнзим А : гидролаза;
- г) ацилкоэнзим А :  $\text{H}_2\text{O}$  оксидоредуктаза;
- д) еноилкоэнзим А : гидролаза.

7. Какой класс липопротеинов формируется в крови и предназначен для транспорта холестерина в клетки:

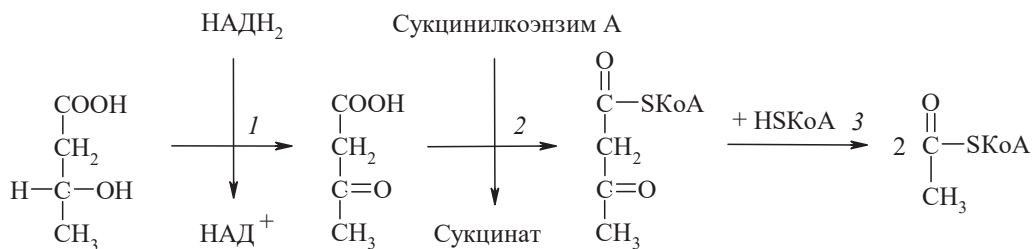
- а) ЛПОНП;
- б) ЛПНП;
- в) ЛПВП;
- г) ХМ.

8. В каких метаболических процессах может быть использован ацетилкоэнзим А:

- а) синтез холестерина, жирных кислот и кетонových тел;
- б) синтез заменимых аминокислот, глюкозы и липидов;
- в) синтез ацетилхолина, жирных кислот и глюкозы;
- г) синтез холестерина, заменимых аминокислот и кетонových тел;
- д) синтез жирных кислот, ацетилхолина и глюкозы.

9. Вставьте пропущенные слова (3 ответа) в предложение: «При голодании уровень инсулина в крови ..., что приводит к распаду ... жировой ткани и ... концентрации незатерифицированных жирных кислот в крови».

10. Напишите названия и номера классов ферментов (6 ответов), катализирующих реакции 1, 2 и 3:



## Раздел 5

# ОБМЕН БЕЛКОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

### 5.1. Биологическая роль белков

В количественном отношении белки образуют самую важную группу макромолекул. Белкам присущ ряд уникальных функций:

- биокаталитическая, все ферменты – вещества белковой природы;
- пластическая, белки входят в состав важнейших структур клеток и тканей;
- регуляторная, большинство гормонов имеют белково-пептидную природу;
- защитная, белки – иммуноглобулины – обеспечивают защиту организма от действия чужеродных антигенов;
- дыхательная, белок гемоглобин в составе эритроцитов обеспечивает транспорт кислорода в ткани и  $\text{CO}_2$  в легкие;
- транспортная, перенос многих важных для организма веществ по крови происходит в комплексе с белками.

В организме человека массой 70 кг содержится примерно 10 кг белка, суточная норма белков в питании составляет примерно 100 г. Доля других азотсодержащих соединений в организме невелика, поэтому и баланс азота в организме определяется прежде всего метаболизмом белков. В отличие от углеводов и липидов белки и составляющие их аминокислоты не способны резервироваться в организме.

### 5.2. Превращения белков и аминокислот в организме

Белки, поступившие в организм с пищей, в желудочно-кишечном тракте расщепляются до аминокислот под действием протеолитических ферментов (пептидгидролазы, пептидазы, протеазы). Внутренние пептидные связи расщепляются эндопептидазами (пепсин, трипсин и химотрипсин), концевые – экзопептидазами (карбоксипептидазы и аминопептидазы). В совокупности эндо- и экзопептидазы доводят гидролиз белков до образования аминокислот.

Образовавшиеся аминокислоты затем всасываются стенкой кишечника и после транспорта кровью включаются в клетках в различные пути использования, главным из которых является синтез собственных белков. Значительная часть аминокислот разносится кровью по всему организму и используется для физиологических целей. Аминокислоты также участвуют в синтезе специфических азотсодержащих соединений – пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, креатина и др. Азот аминокислот, отщепляемый на ранних стадиях катаболизма, в зависимости от потребности организма может утилизироваться в анаболических процессах,



а также включаться в конечный продукт обмена азота – мочевины и экскретироваться из организма. Безазотистые углеродные остатки аминокислот образуют чаще всего кетокислоты, которые далее деградируют по общим путям катаболизма других окисленных углеводов. Включаясь в общие пути катаболизма, аминокислоты могут служить источником энергии. Основные пути использования аминокислот представлены на рис. 21.

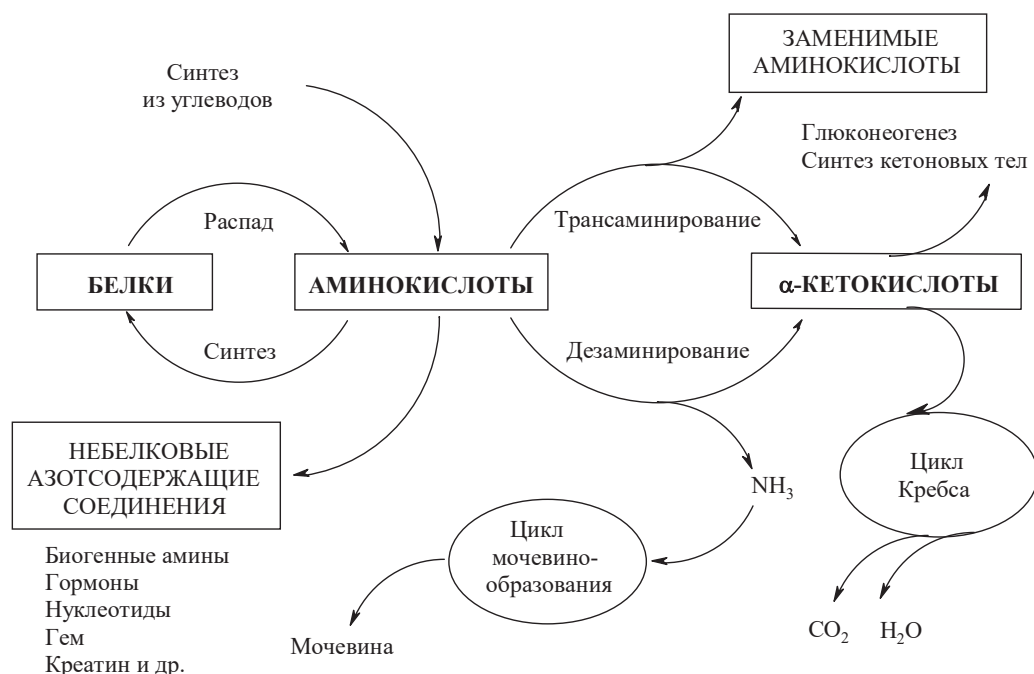


Рис. 21. Основные пути использования аминокислот

В организме создается фонд аминокислот, который пополняется из следующих источников:

- аминокислоты пищи;
- аминокислоты, образующиеся при катаболизме собственных белков;
- аминокислоты, синтезируемые самими клетками.

При этом возможности синтеза аминокислот в организме существенно ограничены. В табл. 7 указаны *незаменимые аминокислоты*, которые не могут быть синтезированы клетками из-за отсутствия источников синтеза, поэтому их присутствие в белках пищи обязательно. Выделяют также *частично заменимые аминокислоты*, которые могут синтезироваться в небольших количествах в организме, и *условно заменимые аминокислоты*, для синтеза которых необходимы незаменимые аминокислоты. Потребность в *заменимых аминокислотах* может быть восполнена синтезом из других соединений.

**Заменяемые и незаменимые аминокислоты**

Незаменимые	Условно заменимые	Частично заменимые	Заменимые
Валин	Тирозин	Аргинин	Аланин
Изолейцин	Цистеин	Гистидин	Аспарагин
Лейцин			Аспартат
Лизин			Глицин
Метионин			Глутамат
Треонин			Глутамин
Триптофан			Пролин
Фенилаланин			Серин

Аминокислотный состав определяет биологическую ценность белка. Чем выше содержание незаменимых аминокислот, тем больше его пищевая ценность. Полноценными белками в питании считаются те, которые содержат незаменимые аминокислоты в нужном количественном и качественном соотношении.

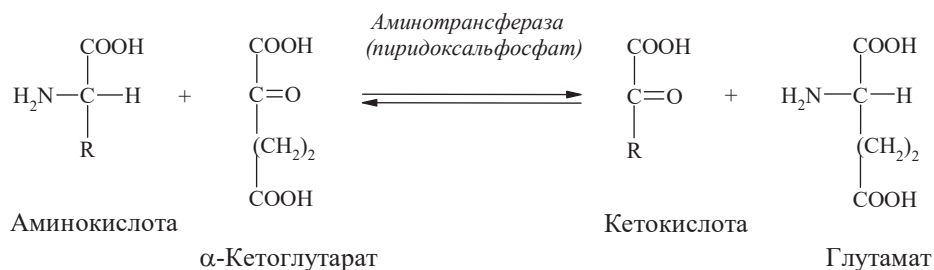
### 5.3. Общие пути обмена аминокислот

Общие пути обмена аминокислот включают реакции дезаминирования, трансаминирования и декарбоксилирования:



Реакции *трансаминирования (переаминирования)* являются наиболее важными реакциями среди общих путей обмена аминокислот. Они играют основную роль в процессе глюконеогенеза и образования новых аминокислот. Суть этой реакции – обратимый перенос аминогруппы с аминокислоты на кетокислоту без промежуточного образования аммиака. Катализируют реакции трансаминирования

ферменты трансминазы (аминотрансферазы), в роли кофермента выступает пиридоксальфосфат (активная форма витамина В<sub>6</sub>):

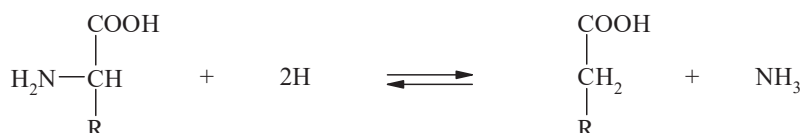


В переаминировании участвует много аминокислот (кроме лизина, треонина), наиболее активными являются глутаминовая, аспарагиновая кислоты, что связывают с высоким содержанием в тканях животных двух специфических аминотрансфераз – аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы.

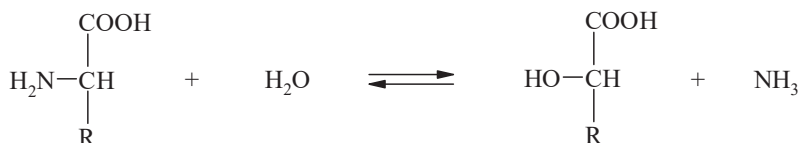
Аминотрансферазы участвуют в синтезе новых аминокислот из α-кетоглутарата. Этот синтез возможен и для получения незаменимых аминокислот, если с пищей будут поступать соответствующие кетокислоты.

*Дезаминирование* – реакция, в ходе которой аминогруппа освобождается в виде аммиака. Механизмы дезаминирования могут быть различными:

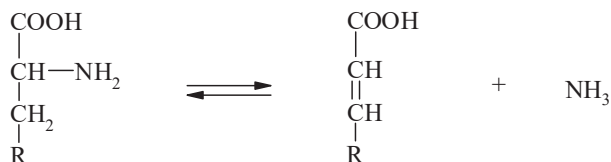
а) восстановительное дезаминирование (с образованием насыщенной жирной кислоты):



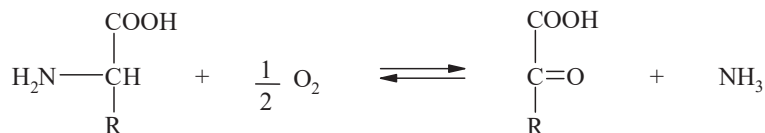
б) гидролитическое дезаминирование (с образованием карбоновой гидроксикислоты):



в) элиминирующее дезаминирование (с образованием ненасыщенных жирных кислот):

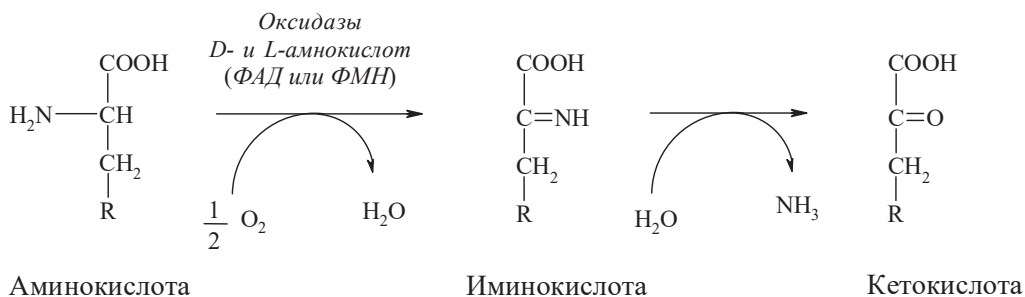


г) окислительное дезаминирование (с образованием кетокислот). У человека окислительное дезаминирование является основным путем катаболизма аминокислот:

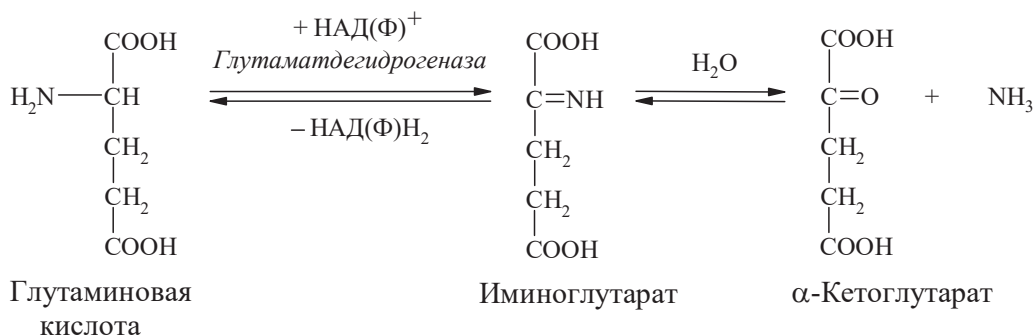


Выделяют два типа окислительного дезаминирования: прямое и непрямое. Если в ходе дезаминирования аминогруппа сразу превращается в аммиак, то реакция называется прямым окислительным дезаминированием. Прямое окислительное дезаминирование может происходить как в аэробных, так и в анаэробных условиях:

1. Аэробное *прямое окислительное дезаминирование* катализируется оксидазами *D*-аминокислот и *L*-аминокислот с участием коферментов ФАД и ФМН соответственно. Реакции, катализируемые оксидазами, в клетках протекают медленно.



2. Анаэробное *прямое окислительное дезаминирование* существует только для *L*-глутаминовой кислоты и катализируется ферментом глутаматдегидрогеназой. Фермент присутствует в митохондриях всех клеток организма (за исключением мышечных). Глутаматдегидрогеназная реакция нуждается в присутствии коферментов НАД<sup>+</sup> или НАДФ<sup>+</sup>:



В ходе дезаминирования глутамата аминогруппа сразу превращается в аммиак.

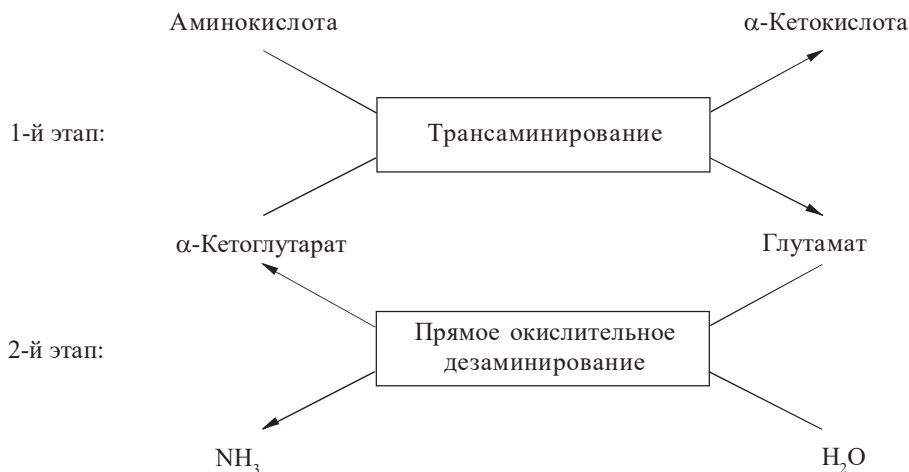
Реакция дезаминирования глутамата ферментом глутаматдегидрогеназой обратима. Обратная реакция – *восстановительное аминирование α-кетоглутарата* – служит источником глутамата в клетках и обезвреживает аммиак.

Все аминокислоты, кроме глутаминовой, дезаминируются непрямой путем. Непрямое окислительное дезаминирование активно протекает во всех клетках организма и состоит из двух этапов:

1. Трансаминирования с α-кетоглутаратом с образованием глутамата;
2. Прямого окислительного дезаминирования глутамата.

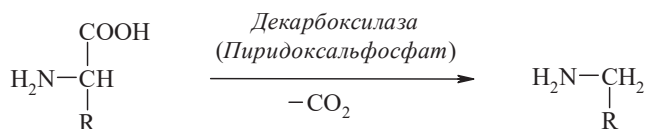
В результате трансаминирования α-кетоглутарат превращается в глутамат, а аминокислоты теряют аминогруппы и превращаются в α-кетокислоты. Далее их углеродный скелет катаболизируется специфическими путями и вовлекается в цикл Кребса, где сгорает до углекислого газа и воды.

Глутаминовая кислота является коллектором всех аминогрупп, и только она подвергается прямому окислительному дезаминированию с образованием аммиака и α-кетоглутаровой кислоты.



Таким образом, реакция прямого окислительного дезаминирования тесно связана с трансаминированием аминокислот. Сопряжение реакций трансаминирования и дезаминирования направляет поток лишнего аминного азота в печень для синтеза мочевины и в почки для синтеза аммонийных солей.

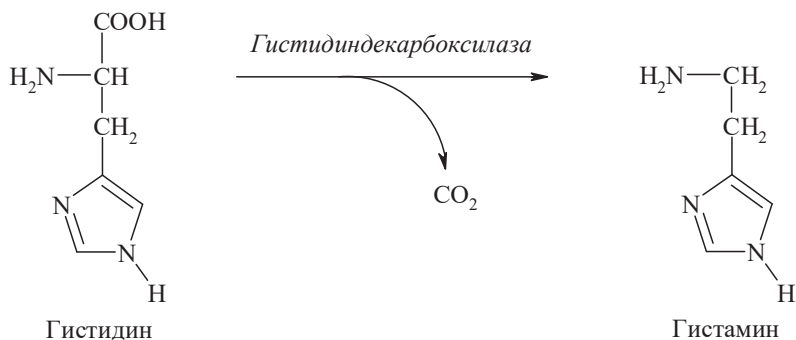
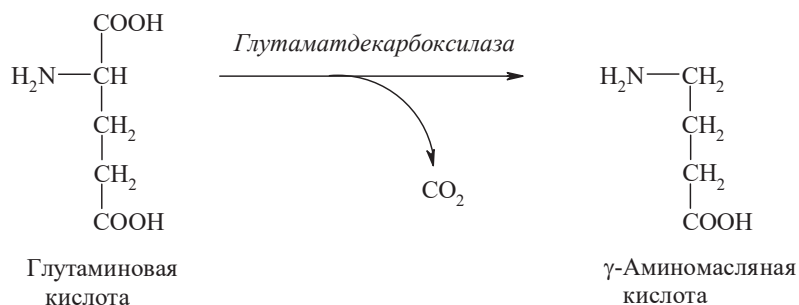
*Декарбоксилирование* аминокислот катализируется декарбоксилазами, коферментом которых является пиридоксальфосфат. Продукты декарбоксилирования обладают высокой биологической активностью, и с этим связано их название «Биогенные амины» (табл. 8):



## Биогенные амины

Аминокислота	Амин	Функция
Серин	Этаноламин	Составная часть фосфолипидов
Гистидин	Гистамин	Образуется в тучных клетках. Является сильным сосудорасширяющим фактором
Треонин	Аминопропанол	Составная часть витамина В <sub>12</sub>
Триптофан	Серотонин	Образуется в нейронах гипоталамуса, является возбуждающим нейромедиатором
Цистеин	Цистеамин	Составная часть КоА
Глутаминовая кислота	γ-Аминомасляная кислота (ГАМК)	Образуется в ткани головного мозга, является тормозным нейромедиатором
Тирозин	Дофамин	Образуется в почках, надпочечниках, синаптических ганглиях, нервах. Является нейромедиатором двигательных структур головного мозга

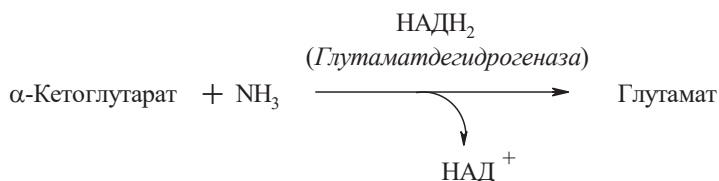
В качестве примера показаны реакции декарбоксилирования с образованием ГАМК и гистамина:



## 5.4. Механизм токсического действия аммиака

Одним из конечных продуктов обмена аминокислот является высокотоксичный для организма аммиак. Даже небольшое повышение его концентрации оказывает неблагоприятное действие на организм и прежде всего на центральную нервную систему:

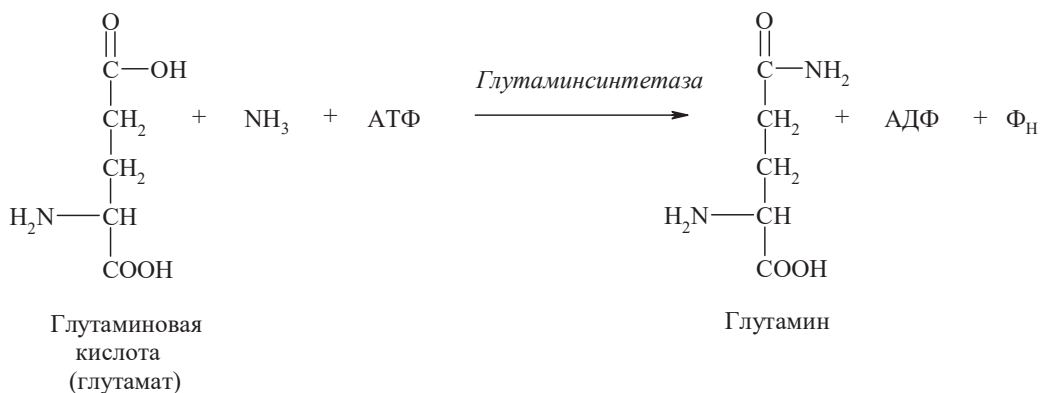
1. Аммиак легко проникает через мембраны в клетки и в митохондриях сдвигает реакцию, катализируемую глутаматдегидрогеназой, в сторону образования глутамата:



Уменьшение концентрации  $\alpha$ -кетоглутарата вызывает угнетение реакции трансаминирования аминокислот, а также снижение скорости цикла Кребса и развитие энергодифицита.

2. Аммиак является основанием, и повышение его концентрации в крови сдвигает pH в щелочную сторону, вызывая алкалоз, который увеличивает сродство гемоглобина к кислороду, что препятствует отдаче им кислорода. В результате развиваются гипоксия тканей, энергодифицит, от которого, главным образом, страдает головной мозг.

3. Аммиак является липофильным веществом, он легко проникает в клетки центральной нервной системы. Высокие концентрации аммиака, при участии глутаминсинтетазы, стимулируют синтез глутамина из глутамата в нервной ткани:



Накопление глутамина в клетках нейроглии приводит к повышению в них осмотического давления, набуханию астроцитов и в больших концентрациях вызывает отек мозга. Снижение концентрации глутамата нарушает обмен аминокислот и нейромедиаторов, в частности, синтез  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК),

являющейся основным тормозным медиатором. При недостатке ГАМК и других медиаторов нарушается проведение нервного импульса, возникают судороги.

4. Растворяясь в воде, аммиак образует ион аммония ( $\text{NH}_4^+$ ), который практически не проникает через цитоплазматические и митохондриальные мембраны. Избыток  $\text{NH}_4^+$  в крови нарушает трансмембранный перенос одновалентных катионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , конкурируя с ними за ионные каналы, что также влияет на проведение нервных импульсов.

5. Низкие концентрации аммиака стимулируют дыхательный центр, а высокие угнетают.

## 5.5. Обезвреживание аммиака

### 5.5.1. Синтез мочевины

Практически весь аммиак удаляется из организма через почки в виде *мочевины*, которая синтезируется в печени, и в виде *солей иона аммония*, образующихся в эпителии канальцев почек.

Мочевина – основной конечный продукт азотистого обмена, в составе которого из организма выделяется до 90 % всего выводимого азота. Экскреция мочевины в норме составляет ~25 г/сут. При повышении количества потребляемых с пищей белков экскреция мочевины увеличивается. Мочевина синтезируется только в печени.

Цикл мочевинообразования (цикл мочевины, орнитиновый цикл, цикл Кребса – Ганзелейта) – циклический процесс. Он происходит в 3 этапа, включающих 5 реакций, каждая из которых катализируется отдельным ферментом:

- синтез аминокислоты цитруллина (две реакции);
- синтез аминокислоты аргинина (две реакции);
- образование мочевины (одна реакция).

Синтез мочевины начинается в митохондриях (первая и вторая реакции), оставшиеся три реакции идут в цитозоле (рис. 22).

Первый этап – синтез аминокислоты цитруллина протекает в митохондриях печени, где аммиак обезвреживается путем связывания с углекислым газом и образования карбамоилфосфата при участии фермента карбамоилфосфатсинтетазы (1).

Затем следует реакция конденсации образовавшегося карбамоилфосфата и аминокислоты орнитина, катализируемая ферментом орнитинкарбамоилтрансферазой, в ходе реакции образуется цитруллин и регенерирует молекула неорганического фосфата (2).

Второй этап – синтез аргинина из цитруллина и аспартата (донора аминогруппы) протекает уже в цитозоле печени и включает две реакции. Первая – конденсация цитруллина и аспарагиновой кислоты с образованием аргининосукцината катализируется аргининосукцинатсинтетазой (3). Вторая реакция – аргининосукцинат распадается на аргинин и фумаровую кислоту при участии фермента аргининосукцинатлиазы (4).



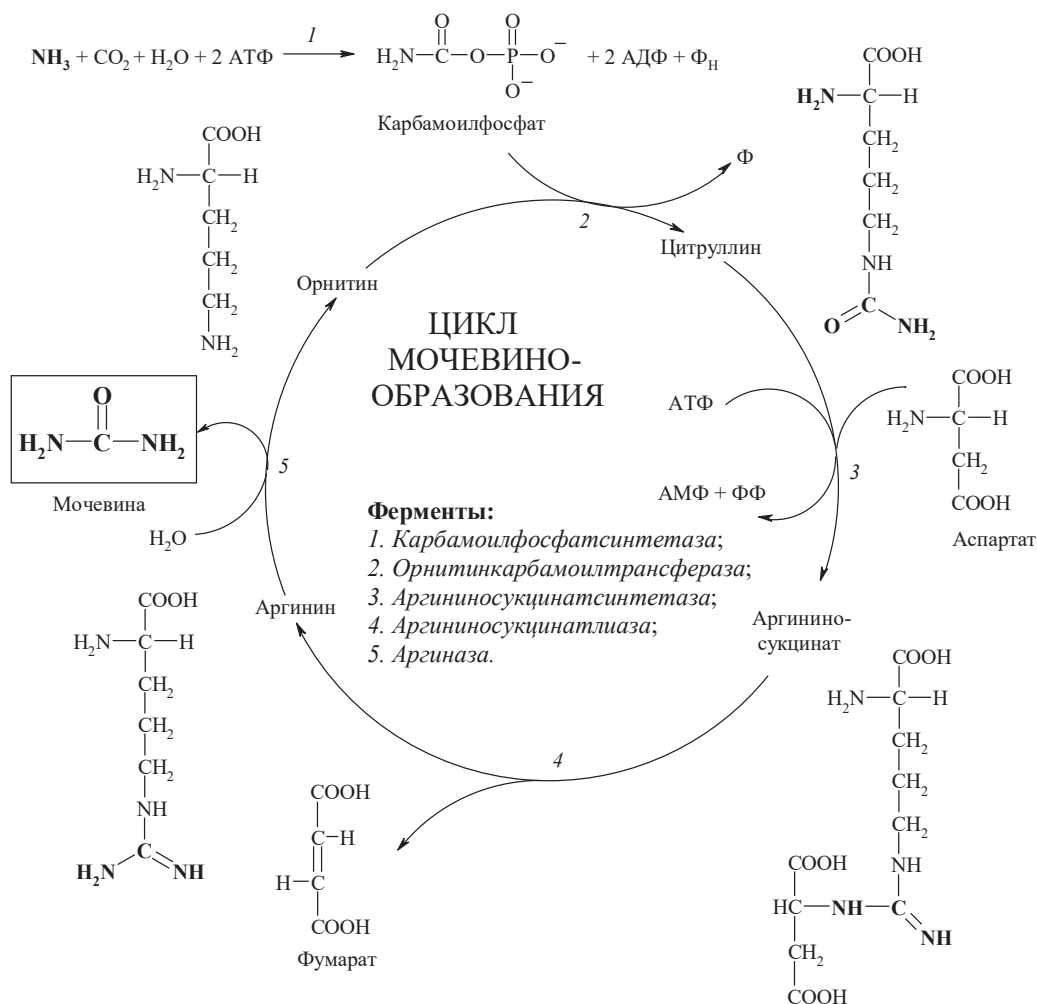
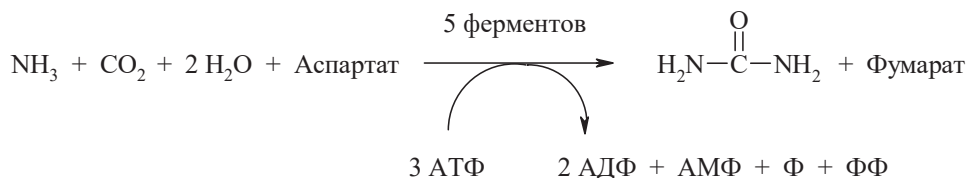


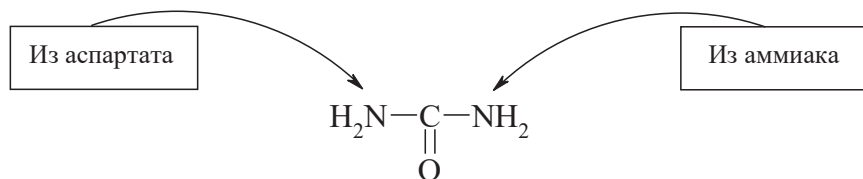
Рис. 22. Цикл мочевинообразования

На третьем этапе аргинин расщепляется на мочевину и орнитин под действием фермента аргиназы (5).

Суммарную реакцию синтеза мочевины можно представить следующим образом:



Из анализа цикла мочевины следует, что включение атома азота происходит в двух реакциях. Один из атомов азота поступает в форме  $\text{NH}_3$  в реакции 1 и является продуктом дезаминирования аминокислот, а другой включается в составе аспартата (реакция 3). Этот второй атом азота может поступать в аспартат из любой аминокислоты путем трансаминирования с оксалоацетатом. Следовательно, атомы азота в мочеvine имеют разное происхождение:



### *Связь цикла мочевинообразования и цикла Кребса*

Между циклом Кребса и циклом мочевинообразования имеются сложные связи, определяющие в известной степени скорость реакций, зависимость от энергетических потребностей клетки и концентраций конечных продуктов метаболизма. Пусковые реакции как цикла мочевины, так и реакции цикла Кребса протекают в митохондриальном матриксе.

Синтез мочевины связан с циклом Кребса тремя основными путями:

1. *Фумарат* является общим метаболитом цикла мочевины и цикла Кребса. В цикле Кребса фумарат превращается в малат и затем в оксалоацетат. Оксалоацетат подвергается трансаминированию с образованием аспартата, который вступает в цикл синтеза мочевины. Оксалоацетат является важным метаболитом, участвующим в ЦТК и глюконеогенезе.

2. При окислении малата до оксалоацетата в цикле Кребса образуется 3 молекулы АТФ, которые в дальнейшем используются для синтеза мочевины.

3. Поступление  $\text{CO}_2$ , необходимого для образования мочевины, обеспечивается работой цикла Кребса:



Таким образом, при помощи этого необычного сцепленного механизма происходит переплетение реакций обоих циклов. Этот механизм получил название «велосипед Кребса» или «двухколесный велосипед Кребса».

### 5.5.2. Синтез аммонийных солей

Непосредственный синтез аммонийных солей происходит в просвете канальцев почек из секретируемых сюда аммиака и ионов водорода и фильтрующихся органических (уксусной, щавелевой, молочной кислот) и неорганических (фосфаты, хлориды, сульфаты) анионов первичной мочи. Около 10 % всего аммиака выводится почками в виде аммонийных солей.

## 5.6. Судьба безазотистого остатка аминокислот

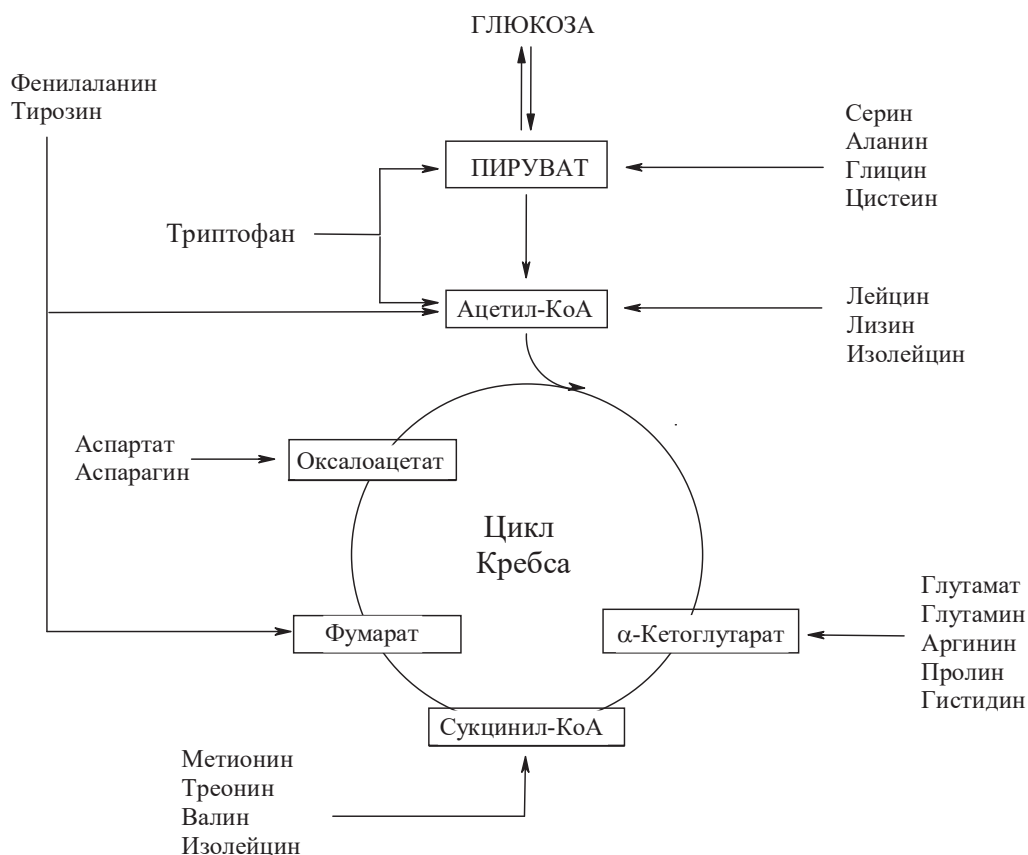
Катаболизм углеродных скелетов, полученных в результате дезаминирования аминокислот, приводит к образованию либо ацетил-КоА, а далее из него жиров или кетоновых тел (*кетогенные аминокислоты*), или к образованию метаболитов, способных включаться в глюконеогенез (*глюкогенные аминокислоты*).

Существует несколько специфических путей катаболизма аминокислот, которые сходятся к 6 продуктам, которые вступают в цикл Кребса, где полностью окисляются до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

К *глюкогенным* относятся аминокислоты (аланин, глицин, треонин, серин, цистеин, метионин, аспаргат, аспарагин, глутамат, глутамин, аргинин, пролин, гистидин), при распаде которых образуются субстраты глюконеогенеза – пируват или метаболиты цикла Кребса (оксалоацетат,  $\alpha$ -кетоглутарат, сукцинал-КоА).

*Строго кетогенными аминокислотами* являются лизин и лейцин, при их окислении образуется исключительно ацетил-КоА, который далее принимает участие в синтезе кетоновых тел, жирных кислот и холестерина.

Выделяют небольшую группу *смешанных аминокислот*, из которых образуются как пируват или метаболиты цикла Кребса, так и ацетил-КоА. Смешанными аминокислотами являются фенилаланин, тирозин, изолейцин, триптофан.



Для ряда аминокислот существуют специфические пути обмена, обусловленные особенностями их строения и физиологической роли в организме.

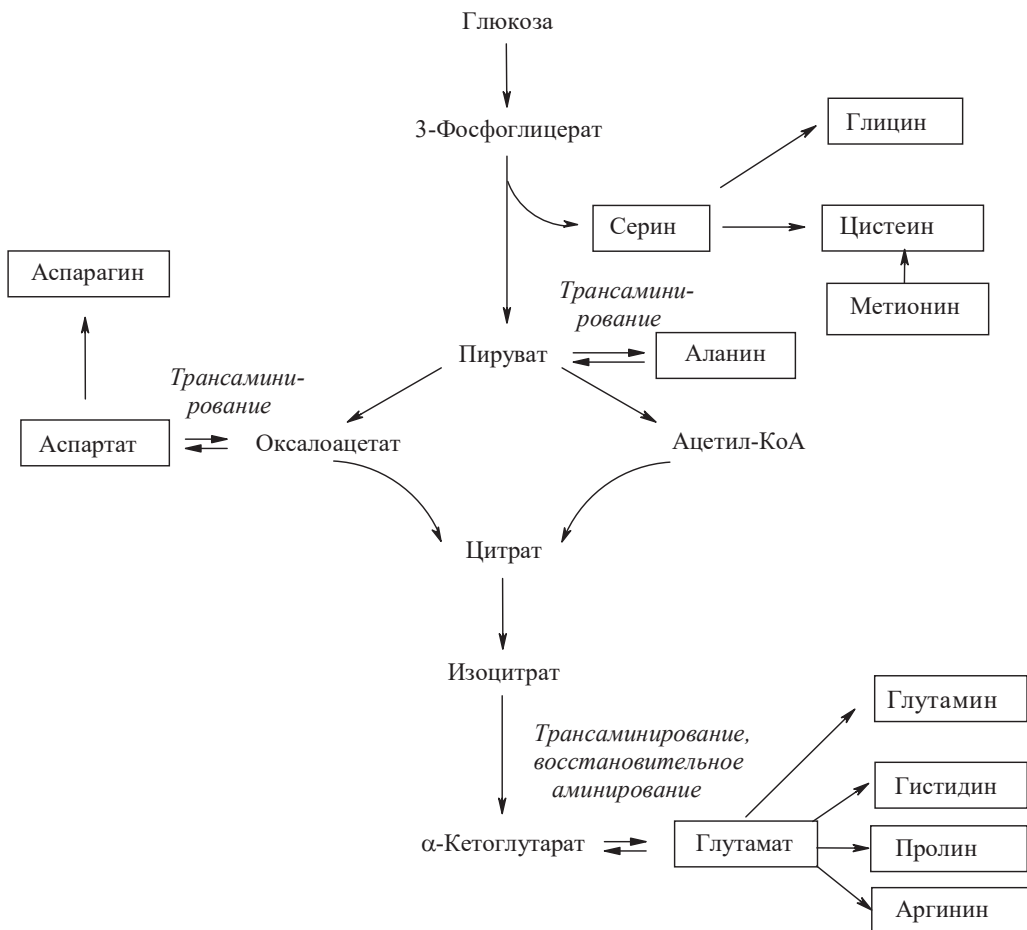
## 5.7. Биосинтез аминокислот

Растения и многие виды бактерий содержат ферменты, необходимые для синтеза всех необходимых  $\alpha$ -кетокислот. Животные утратили способность синтезировать некоторые  $\alpha$ -кетокислоты, из которых могут быть получены незаменимые аминокислоты. Другие  $\alpha$ -кетокислоты могут образовываться в результате метаболизма иных соединений (в основном из глюкозы) и использоваться для синтеза заменимых аминокислот.

Человек и животные способны синтезировать из неаминокислотных предшественников только 8 из 20 аминокислот, необходимых для синтеза белка (*заменимые аминокислоты*), 2 аминокислоты (*частично заменимые аминокислоты*) синтезируются в ограниченных количествах и еще 2 образуются из незаменимых аминокислот (*условно заменимые аминокислоты*). Углеродный скелет аминокислот образуется из промежуточных метаболитов гликолиза, пентозофос-

фатного пути, цикла Кребса. Основными путями биосинтеза аминокислот являются: прямое аминирование  $\alpha$ -кетокислот или ненасыщенных органических кислот, реакции трансаминирования, ферментативные взаимопревращения отдельных аминокислот – как заменимых, так и незаменимых.

Ниже приведена схема синтеза одиннадцати заменимых аминокислот, углеродный скелет которых может образовываться из метаболитов гликолиза и цикла Кребса:



Необходимо отметить, что источником атома серы в молекуле условно заменимого цистеина служит незаменимый метионин. Двенадцатая аминокислота – тирозин – синтезируется путем гидроксирования незаменимой аминокислоты фенилаланина и на схеме не показана.

## 5.8. Переваривание и всасывание нуклеиновых кислот

С пищей в сутки в организм человека поступает около 1 г нуклеиновых кислот. Переваривание нуклеиновых кислот происходит в тонкой кишке (рис. 23). Нуклеиновые кислоты пищи подвергаются гидролизу под действием ферментов панкреатического сока. Ферменты, катализирующие распад нуклеиновых кислот, называют нуклеазами или фосфодиэстеразами. По специфичности действия различают дезоксирибонуклеазы (ДНКазы, расщепляющие ДНК) и рибонуклеазы (РНКазы, расщепляющие РНК).

Различают эндонуклеазы и экзонуклеазы. Эндонуклеазы действуют на внутренние фосфодиэфирные связи в молекулах ДНК и РНК и обеспечивают распад нуклеиновых кислот в основном до олигонуклеотидов. Экзонуклеазы отщепляют нуклеотиды с 3'- или 5'-конца полинуклеотидной цепи и приводят к образованию свободных мононуклеотидов.

В результате действия внутриклеточных эндо- и экзонуклеаз нуклеиновые кислоты расщепляются до мононуклеотидов, которые при участии ферментов тонкого кишечника нуклеотидаз (фосфатаз) гидролизуются с образованием соответствующего нуклеозида и ортофосфорной кислоты.

Нуклеозиды далее расщепляются под действием ферментов нуклеозидаз до азотистых оснований и пентоз (рибозы или дезоксирибозы).

Продукты переваривания нуклеиновых кислот поступают в кровь, а затем в печень и другие органы. В клетках организмов обмен РНК протекает значительно более интенсивно, чем обмен ДНК.



Рис. 23. Схема расщепления (гидролиза) нуклеиновых кислот

В конечном итоге нуклеиновые кислоты расщепляются на азотистые основания, пентозы и фосфорную кислоту.

*Азотистые основания* превращаются в конечные продукты обмена и выводятся с мочой. Пуриновые азотистые основания в процессе катаболизма теряют аминогруппу в виде аммиака, окисляются и превращаются в мочевую кислоту. Пиримидиновые основания подвергаются более глубокому расщеплению до углекислого газа, воды и аммиака.

*Пентозы* вовлекаются в пентозофосфатный путь и могут быть окислены до углекислого газа и воды.

*Фосфорная кислота* распаду не подвергается и используется для фосфорилирования органических соединений или выводится из организма с мочой.

Продукты гидролиза нуклеиновых кислот поступают в клетки организма и используются для синтеза нуклеотидов, нуклеиновых кислот, а также удовлетворения энергетических потребностей организма.

## 5.9. Катаболизм пуриновых оснований

Реакции расщепления пуриновых нуклеотидов – аденозинмонофосфата (АМФ) и гуанозинмонофосфата (ГТФ) – происходят различными путями, но приводят к одному продукту – ксантину (рис. 24). Первоначально нуклеотиды подвергаются реакции гидролитического отщепления фосфатного остатка с образованием соответствующих нуклеозидов: аденозина и гуанозина. Затем гуанозин гидролизует до свободного основания гуанина, которое непосредственно превращается в ксантин. Образование ксантина из аденозина происходит через ряд промежуточных стадий: дезаминирование аденозина с образованием инозина, гидролиз инозина до свободного основания гипоксантина и, наконец, окисление гипоксантина до ксантина. Превращение гипоксантина в ксантин происходит под действием фермента ксантиноксидазы. Этот фермент в значительных количествах обнаруживается в печени и кишечнике и окисляет пурины молекулярным кислородом, а в качестве побочного продукта образует высокотоксичный супероксид-радикал ( $O_2^{\cdot -}$ ).

Дальнейшая судьба ксантина может быть различной и зависит от конкретного организма. У человека, как и у большинства приматов, птиц, некоторых рептилий и большинства насекомых, ксантин под действием ксантиноксидазы превращается в мочевую кислоту. Образование мочевой кислоты происходит преимущественно в печени. В сутки в организме человека образуется 0,5–1 г мочевой кислоты, которая удаляется из организма главным образом с мочой и незначительно с фекалиями. Мочевая кислота плохо растворяется в воде, и при нарушении обмена нуклеиновых кислот мочевая кислота откладывается в виде кристалликов в суставах пальцев, хрящах, в коже и мышцах, образуя узелки. Вокруг узелков развивается болезненный очаг воспаления. С этими симптомами связано заболевание подагра.

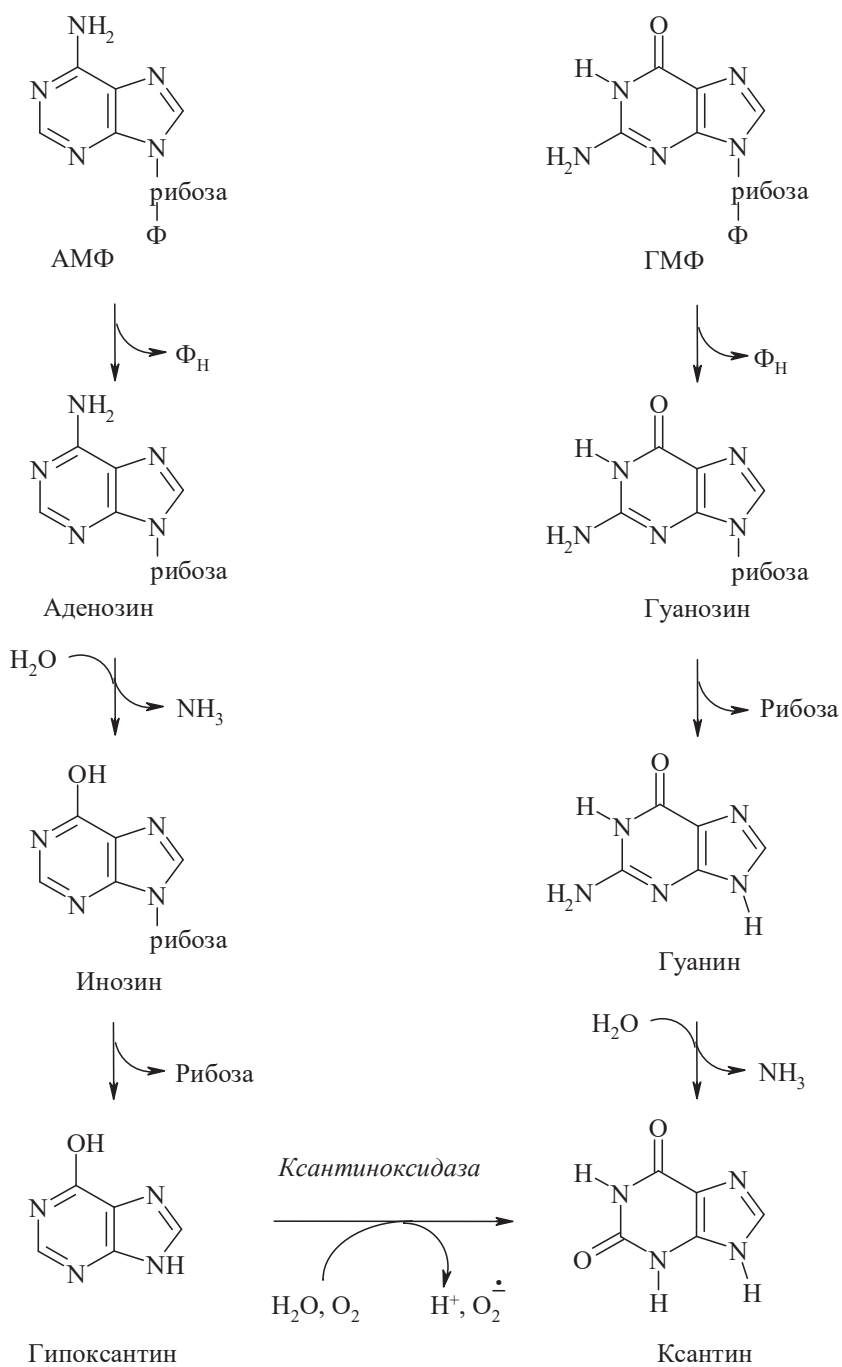
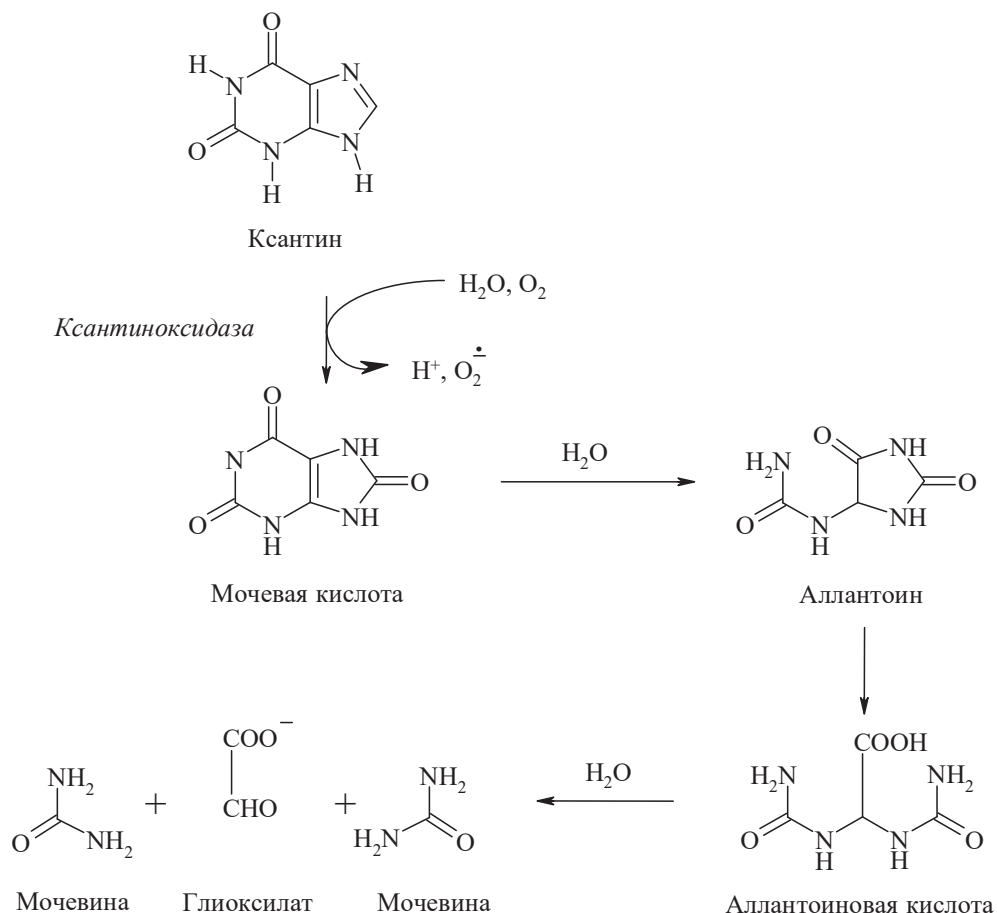


Рис. 24. Реакции расщепления пуриновых нуклеотидов



У всех остальных наземных животных конечным продуктом катаболизма пуринов является более растворимый аллантион, который образуется в ходе дальнейшего окисления мочевой кислоты.



У некоторых животных аллантион может распадаться далее до мочевины и аммиака. У амфибий и рыб аллантион гидролизуеться до аллантииновой кислоты. Во многих организмах аллантииновая кислота расщепляется до мочевины и глиоксилата.

## 5.10. Катаболизм пиримидиновых оснований

Основной путь катаболизма пиримидиновых оснований, образующихся в результате гидролиза пиримидиновых нуклеотидов, протекает через восстановление урацила и тимина до полностью гидрированных структур – дигидроурацила и дигидротимина соответственно. Цитозин также расщепляется по этому пути после его дезаминирования до урацила (рис. 25).

Раскрытие кольца в дигидроурациле и последующий гидролиз приводят к образованию  $\beta$ -аланина, углекислого газа и аммиака. Аналогичные реакции при расщеплении тимина дают  $\beta$ -аминоизомасляную кислоту, углекислый газ и аммиак.

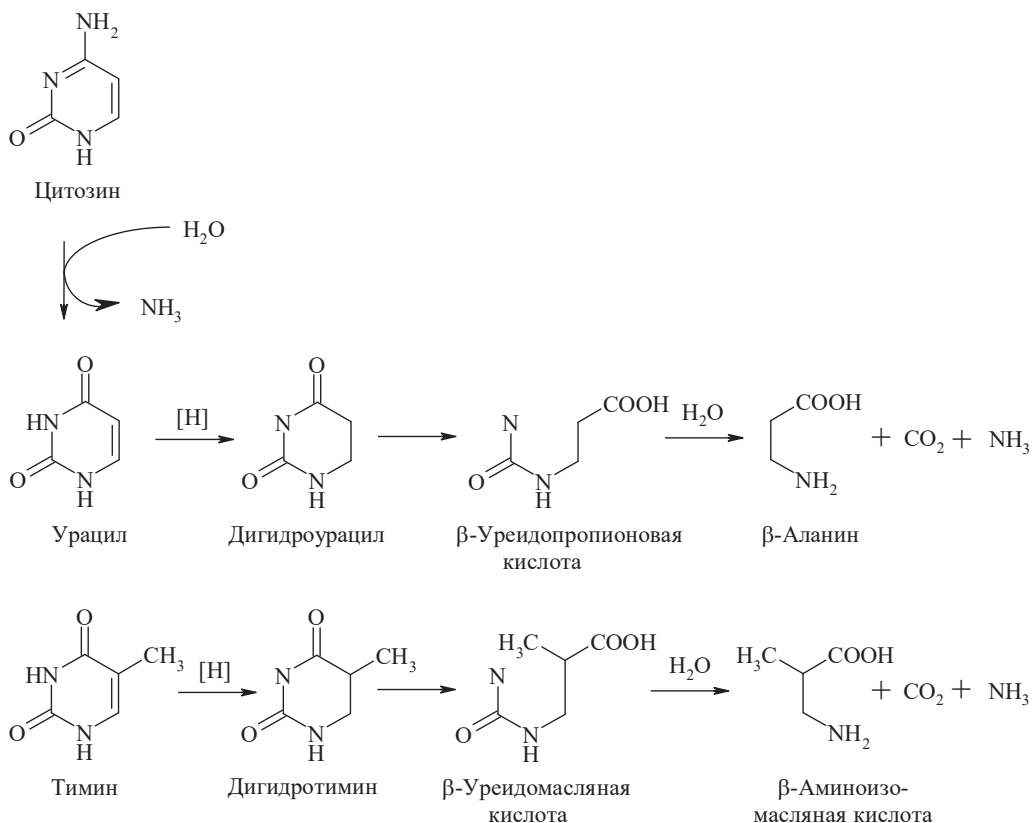


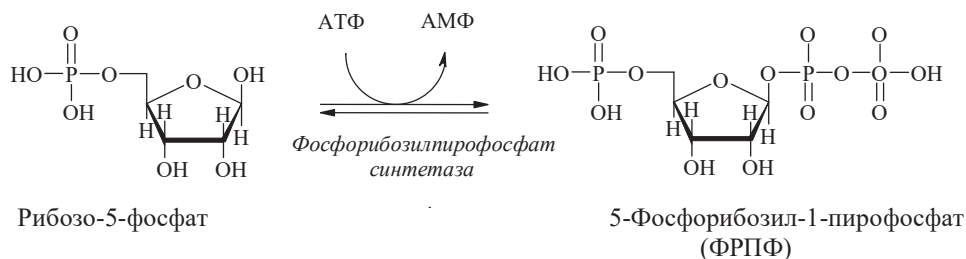
Рис. 25. Катаболизм пиримидиновых оснований

Продукты катаболизма пиримидинов выводятся из организма или повторно используются в других метаболических процессах. Так, аммиак включается в орнитинный цикл образования мочевины.  $\beta$ -аланин используется микрофлорой кишечника при биосинтезе пантотеновой кислоты (витамин  $\text{B}_3$ ), которая, в свою очередь, необходима для синтеза коэнзима А и ацилпереносящего белка, участвующего в синтезе жирных кислот.  $\beta$ -аминоизомасляная кислота участвует в реакциях трансаминирования с  $\alpha$ -кетоглутаратом с образованием метималонного полуальдегида, который используется в синтезе пропионата и сукцината.

## 5.11. Анаболизм нуклеотидов

Почти все организмы способны синтезировать пиримидиновые и пуриновые нуклеотиды из простых соединений, например, из  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ , аспартата, глицина, глутамина и рибозы.

В синтезе обоих типов нуклеотидов фосфорибозильный фрагмент переносится в виде 5-фосфорибозил-1-пирофосфата (ФРПФ), который образуется при фосфорилировании рибозо-5-фосфата – промежуточного метаболита пентозофосфатного пути:



Для синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов существуют отдельные пути. Метаболические пути, ведущие к образованию пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, различаются в основном тем, на каком этапе синтеза возникает  $\beta$ -гликозидная связь (табл. 9). При синтезе пуринов эта связь образуется на первом этапе, и циклическая система строится уже после того, как связь образовалась. В отличие от этого синтез пиримидинового кольца завершается еще до образования связи между этим кольцом и рибозо-5-фосфатом.

Т а б л и ц а 9

**Сравнительная характеристика путей синтеза  
пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов**  
[см.: 2, с. 331]

Особенности синтеза	Путь синтеза	
	Пуринов	Пиримидинов
Последовательность синтеза	1. Образование N-гликозидной связи. 2. Сборка кольцевой структуры	1. Сборка кольцевой структуры. 2. Образование N-гликозидной связи
Ключевая реакция	Образование фосфорибозиламина (фосфорибозиламидотрансфераза)	Образование карбамоилфосфата (карбамоилфосфатсинтетаза)
Локализация в клетке	Цитозоль	Митохондрии и цитозоль
Регуляция	Торможение ИМФ, АМФ и ГМФ на нескольких уровнях	Торможение УТФ карбамоилфосфатсинтетазы

Первым продуктом нуклеотидной природы пуринового пути является инозин-5-монофосфат (ИМФ), пиримидинового пути – уридинмонофосфат (УМФ). Из ИМФ и УМФ получаются все остальные пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды соответственно.

### 5.11.1. Биосинтез пуриновых мононуклеотидов

Биосинтез первого пуринового нуклеотида – ИМФ – включает 10 ферментативных реакций и протекает с затратой энергии АТФ (рис. 26). Формирование пуринового кольца начинается сразу на рибозо-5-фосфате, к которому присоединяются атомы азота и углерода. Источниками этих атомов являются аминокислоты глицин, глутамин, аспарагиновая кислота. Часть атомов углерода поставляется коферментами, содержащими в своем составе фолиевую кислоту и биотин. В результате последующих реакций происходит последовательная сборка пуринового кольца на этой основе.

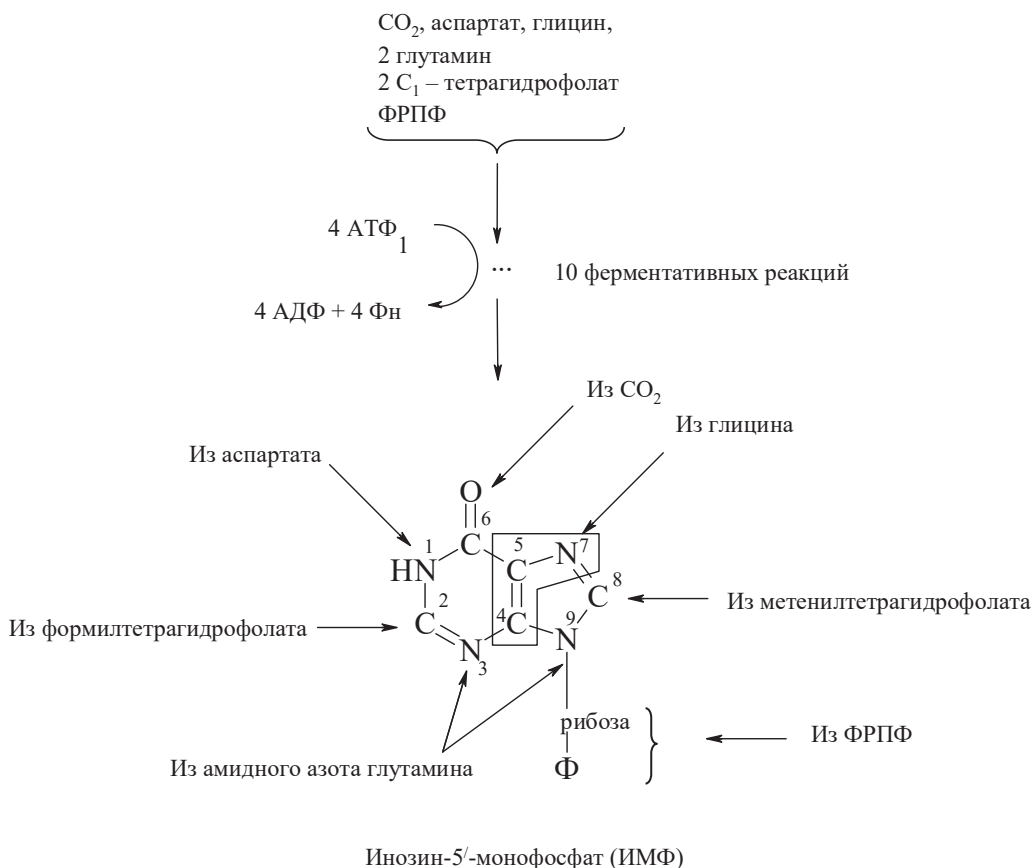
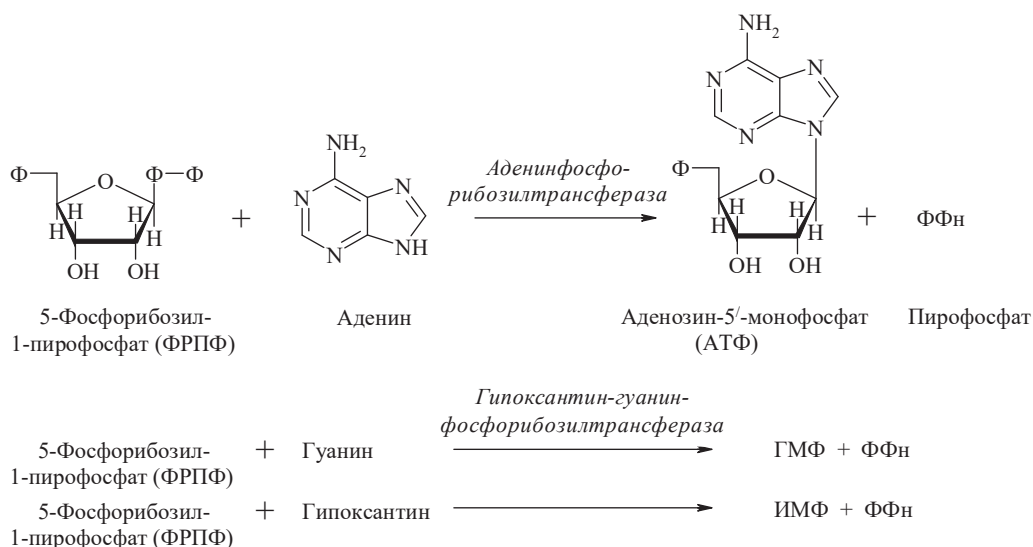


Рис. 26. Биосинтез пуриновых мононуклеотидов

Происхождение каждого атома пуринового гетероцикла установлено экспериментально с использованием изотопов. Как видно, два атома азота ( $N^3$  и  $N^9$ ) пуринового кольца происходят из амидной группы глутамина, третий атом азота ( $N^1$ ) – из аспартата, и, наконец, четвертый ( $N^7$ ) – из глицина. Из глицина происходят также четвертый и пятый атомы углерода. Атомы углерода ( $C^2$  и  $C^8$ ) происходят из формиата, а шестой атом углерода – из  $CO_2$ .

Из ИМФ образуются другие нуклеозидмонофосфаты, например, АМФ и ГМФ.

Существует альтернативный путь синтеза пуриновых нуклеотидов. Это обусловлено тем, что на синтез циклической структуры пуринов затрачивается значительное количество энергии в форме АТФ. Поэтому в клетке содержатся ферменты, которые используют («реутилизируют») пуриновые основания, образующиеся при катаболизме нуклеотидов, до их превращения в ксантин и мочевую кислоту:



Ферменты аденинфосфорибозилтрансфераза и гипоксантингуанинфосфорибозилтрансфераза утилизируют свободные пурины, превращая их снова в нуклеотиды при взаимодействии с ФРПФ.

## 5.11.2. Биосинтез пиримидиновых мононуклеотидов

Биосинтез пиримидиновых мононуклеотидов происходит поэтапно и включает 6 ферментативных реакций (рис. 27). В синтезе уридинмонофосфата циклическая пиримидиновая структура формируется до присоединения к рибозо-5-фосфату.

На первом этапе из  $CO_2$ , глутамина и АТФ образуется карбамоилфосфат. Затем из карбамоилфосфата и аспарагиновой кислоты синтезируется необычное азотистое основание – оротовая кислота, которая содержит пиримидиновое кольцо. Оротовая кислота присоединяется к рибозо-5-фосфату и возникает пиримидиновый нуклеотид оротидинмонофосфат. Далее оротовая кислота в составе нуклеотида преобразуется в уридин пиримидиновые нуклеотиды.

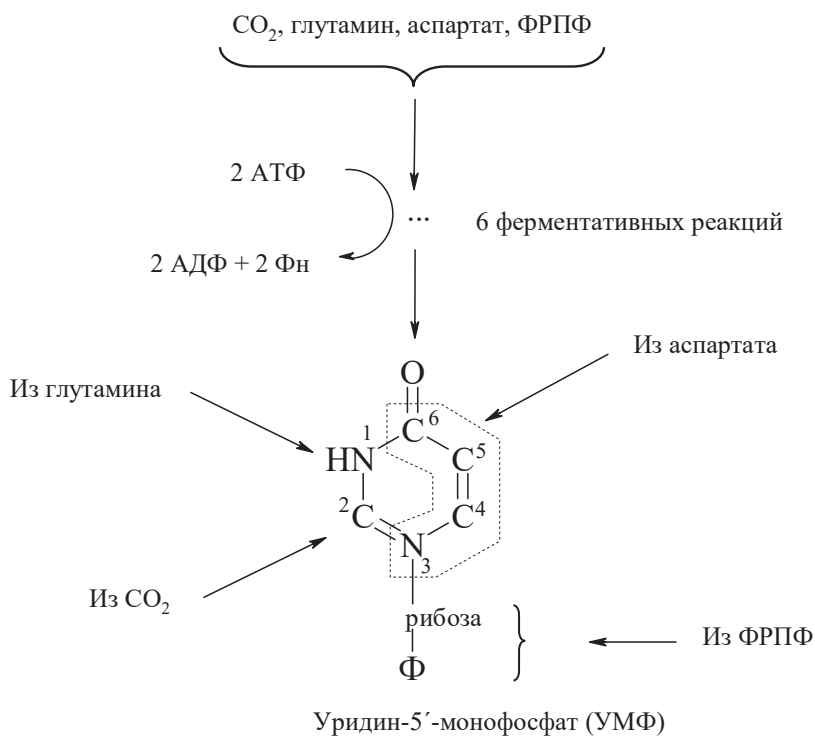
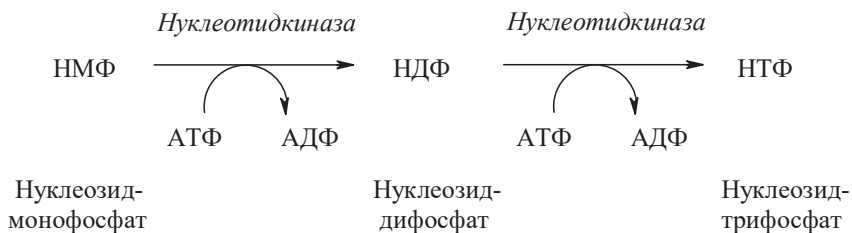


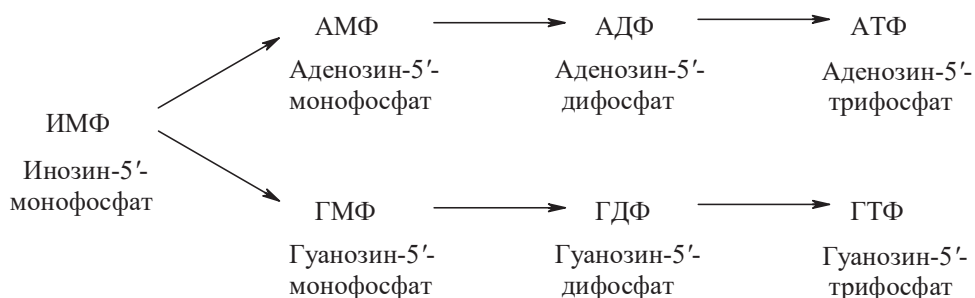
Рис. 27. Биосинтез пиримидиновых мононуклеотидов

### 5.11.3. Биосинтез нуклеозидтрифосфатов

Нуклеозидтрифосфаты образуются при участии АТФ из нуклеотид-монофосфатов (НМФ) в результате двух последовательно протекающих реакций фосфорилирования:



Уридинмонофосфат (УМФ) служит предшественником для трифосфонуклеотидов УТФ и ЦТФ. Причем, образование УТФ происходит в описанные выше две стадии фосфорилирования, а ЦТФ образуется из УТФ путем аминирования в положении 4 пиримидинового кольца.



Предшественником ГТФ и АТФ является инозин-5'-монофосфат (ИМФ). В обоих случаях сначала модифицируется гипоксантиновое кольцо ИМФ с образованием соответствующих монофосфонуклеотидов ГМФ и АМФ, которые затем фосфорилируются.

#### 5.11.4. Биосинтез дезоксирибонуклеотидов

Дезоксирибонуклеотиды образуются из соответствующих рибонуклеозидфосфатов путем восстановления входящей в них рибозы в дезоксирибозу при участии фермента рибонуклеотид-редуктазы.

Источником восстановительных эквивалентов является термостабильный белок – тиоредоксин, который содержит две свободные SH-группы. Тиоредоксинредуктаза катализирует НАДФН-зависимое восстановление тиоредоксина (рис. 28).

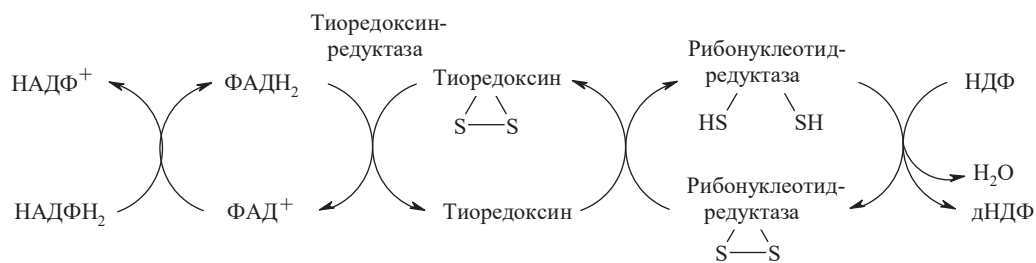
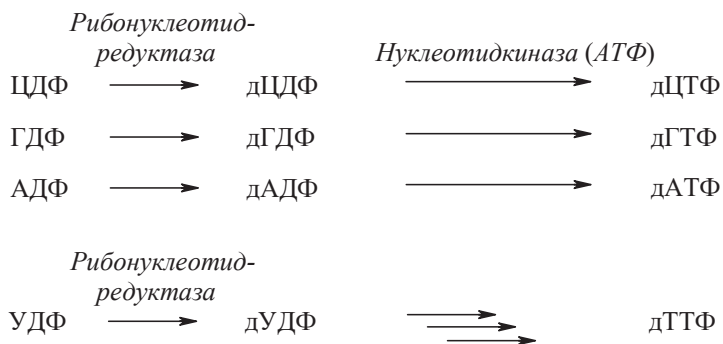


Рис. 28. Биосинтез дезоксирибонуклеотидов

Если в реакцию вступают нуклеозиддифосфаты, то синтезируются дезоксирибонуклеотиды: дУДФ, дЦДФ, дГДФ и дАДФ. Дезоксирибонуклеозиддифосфаты дЦДФ, дГДФ и дАДФ далее могут фосфорилироваться до соответствующих дезоксирибонуклеозидтрифосфатов дЦТФ, дГТФ и дАТФ. дУДФ служит предшественником дТТФ.



Биосинтез всех дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфатов и рибонуклеозид-5'-трифосфатов регулируется в клетке таким образом, что они образуются независимо друг от друга в строго определенных соотношениях.

## 5.12. Синтез нуклеиновых кислот

Для синтеза нуклеиновых кислот используются мононуклеотиды обязательно в трифосфатной форме. Такие нуклеотиды содержат в своей молекуле три остатка фосфорной кислоты и обладают повышенным запасом энергии. Для синтеза РНК используются АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ, а для синтеза ДНК, соответственно, дАТФ, дГТФ, дТТФ, дЦТФ.

Процесс репликации, или редупликации, ДНК иначе можно назвать удвоением. Он происходит перед делением клетки. Для реализации репликации необходимы: матрица – расплетенная цепь ДНК; субстраты, участвующие в полимеризации ДНК (дезоксирибонуклеозидтрифосфаты); ферменты, катализирующие этот процесс; ионы  $Mg^{2+}$ , а также белковые факторы, обеспечивающие деспирализацию двухнитевой ДНК. Синтез ДНК осуществляет фермент ДНК-полимераза. Этот фермент достраивает к каждой из них комплементарную ей цепь. Таким образом, из одной молекулы образуются две одинаковые дочерние молекулы, причем обе цепи ДНК служат матрицами для дочерних цепей. Процесс является полуконсервативным, так как по завершении репликации каждая дочерняя молекула ДНК содержит одну родительскую и одну вновь синтезированную цепь. По мере присоединения к матрице нуклеотиды связываются в полинуклеотидные нити, которые сразу же закручиваются в двойную спираль. Биологический смысл репликации состоит в том, что из одной молекулы ДНК появляются две ее полные копии. Процесс этот идет с очень высокой точностью – ошибки крайне редки.

Процесс синтеза РНК на ДНК-матрице называется транскрипцией. Транскрипцию осуществляет фермент РНК-полимераза. Этот фермент соединяет между собой рибонуклеотиды, составляющие остов молекулы РНК. Делает это фермент на основании считывания последовательности молекулы ДНК и достраивания комплементарной ей последовательности. Показано, что в этом процессе только одна из двух цепей ДНК играет роль матрицы.



## Вопросы для проверки усвоения материала

1. Аминокислоты: определение, биологическое значение. Классификация аминокислот по строению, полярности боковых радикалов, физиологическим свойствам. Изомерия аминокислот, биологическое значение. Растворимость аминокислот и кислотно-основные свойства, понятие об изоэлектрической точке.

2. Биологические функции белков: ферментативная, структурная, регуляторная, защитная, рецепторная, транспортная, двигательная, энергетическая. Особенности строения структурных (коллаген, кератин, фиброин) и транспортных (гемоглобин) белков.

3. Нуклеиновые кислоты. Нуклеотиды и нуклеозиды, строение, биологические функции. Важнейшие представители мононуклеотидов и олигонуклеотидов. ДНК и РНК: строение, биологические функции.

4. Пути обмена аминокислот в клетке: реакции декарбоксилирования, переаминирования и дезаминирования, биологическое значение. Судьба безазотистого остатка аминокислот, глюкогенные и кетогенные аминокислоты. Использование аминокислот для синтеза биологически активных веществ.

5. Образование, токсичность и обезвреживание аммиака. Цикл мочевины: реакции, регуляция, биологическое значение. Взаимосвязь обмена аминокислот с циклом Кребса, обменом углеводов и липидов.

6. Этапы биосинтеза белка (рекогниция, транскрипция, трансляция): сущность процессов, субстраты, ферменты, локализация в клетке. Катаболизм белка в лизосомах и протеасомах, механизмы и биологическое значение. Роль гормонов и нервной системы в регуляции белкового обмена.

## Письменное домашнее задание

### Обязательное

1. Переваривание белков в желудке обеспечивает фермент желудочного сока пепсин. Главный протеолитический фермент сока поджелудочной железы – трипсин – продолжает переваривание в двенадцатиперстной кишке. Известно, что пепсин преимущественно гидролизует пептидные связи, образованные аминокислотами ароматических аминокислот, а трипсин – карбоксильными группами основных аминокислот. На какие фрагменты будет расщеплен полипептид следующего строения

$\text{H}_2\text{N}-\text{Ala}-\text{Gly}-\text{Phe}-\text{Leu}-\text{Ser}-\text{Lys}-\text{Ala}-\text{Val}-\text{Ile}-\text{Met}-\text{Arg}-\text{Ser}-\text{Glu}-\text{Tyr}-\text{Gly}-\text{COOH}$   
при действии пепсина, трипсина и последовательном действии обоих ферментов?

2. Напишите химические реакции обмена аминокислот в клетках и дайте названия катализирующим их ферментам:

- а) декарбоксилирование гистидина;
- б) окислительное дезаминирование глутамата;
- в) переаминирование глутамата и оксалоацетата;

- г) гидроксилирование фенилаланина с образованием тирозина;
- д) декарбоксилирование триптофана;
- е) гидролиз аргинина с образованием мочевины.

Какие витамины являются предшественниками коферментов, участвующих в этих реакциях? Какие из приведенных аминокислот являются незаменимыми?

3. В эксперименте на животных изучали метаболизм аминокислот. Для этого им скармливали аспарагиновую кислоту, меченую радиоактивным азотом по аминокгруппе. Через некоторое время в моче животных радиоактивная метка была обнаружена в двух низкомолекулярных веществах. Первое вещество оказалось хорошо растворимо в воде, второе легко образовывало осадок. Эксперимент повторили в условиях белкового голодания. Выведение радиоактивных продуктов обмена с мочой резко увеличилось. О каких веществах идет речь в задаче? Как объяснить наблюдавшиеся закономерности? В каких еще веществах мог быть обнаружен меченый атом азота?

4. Напишите структурную формулу участка молекулы ДНК, содержащую азотистые основания А – Г – Ц, и комплементарного ему участка. Какие типы связи образуются между нуклеотидами в пределах одной цепи и между двумя комплементарными цепями?

#### Д о п о л н и т е л ь н о е

1. Напишите химические реакции обмена аминокислот в клетках и дайте названия катализирующим их ферментам:

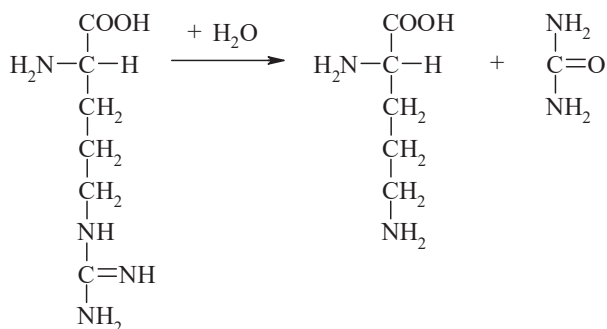
- а) декарбоксилирование цистеина;
- б) внутримолекулярное дезаминирование гистидина;
- в) переаминирование лейцина и  $\alpha$ -кетоглутарата;
- г) гидроксилирование триптамина с образованием серотонина;
- д) метилирование норадреналина в адреналин;
- е) окисление аргинина в цитруллин с образованием оксида азота (NO).

2. В медицине используются лекарственные препараты, влияющие на обмен нуклеотидов: оротат калия, инозин (рибоксин), 5-фторурацил. Напишите их структурные формулы. Укажите, какие метаболические пути они активируют или ингибируют, каким лечебным действием обладают.

### **Типовой вариант тестового контроля по теме «Обмен аминокислот, белков и нуклеиновых кислот»**

**Инструкция:** при отсутствии дополнительных указаний в вопросе теста выберите один верный вариант ответа.

1. Выберите название фермента, катализирующего следующую реакцию:
- а) карбамоилфосфатсинтетаза;
  - б) аргининосукцинатсинтетаза;



- в) аргининосукцинатлиаза;
- г) аргиназа;
- д) уреаза.

2. Укажите продукты декарбоксилирования аминокислот:

- а) новая аминокислота и кетокислота;
- б) углекислый газ и вода;
- в) новая аминокислота и аммиак;
- г) углекислый газ и амин;
- д) аммиак и вода.

3. Выберите фермент, катализирующий окислительное дезаминирование аминокислот:

- а) аспаратаминотрансфераза;
- б) аланинаминотрансфераза;
- в) глутаминаза;
- г) глутаматдегидрогеназа;
- д) глутаматдекарбоксилаза.

4. Углеродные скелеты аминокислоты АСП и АСН превращаются в субстрат цикла Кребса оксалоацетат, поэтому данные аминокислоты называют:

- а) условно заменимыми;
- б) незаменимыми;
- в) глюкогенными;
- г) кетогенными;
- д) протеиногенными.

5. Укажите свойства мочевины, делающие ее нетоксичной:

- а) сильное основание, растворима в воде, легко выводится с мочой;
- б) слабое основание, растворима в воде, легко выводится с мочой;
- в) сильное основание, растворима в липидах, легко выводится с мочой;
- г) слабое основание, растворима в липидах, не выводится с мочой;
- д) слабое основание, растворима в воде, не выводится с мочой.

6. Участок молекулы ДНК, комплементарный участку ААГЦЦТ, имеет вид:

- а) ААГЦЦТ;

- б) ТТАГГУ;
- в) ТТЦГАА;
- г) ЦЦАГУУ;
- д) ТАГЦТУ.

7. Какая связь образуется между двумя фосфорными остатками в нуклеотиде:

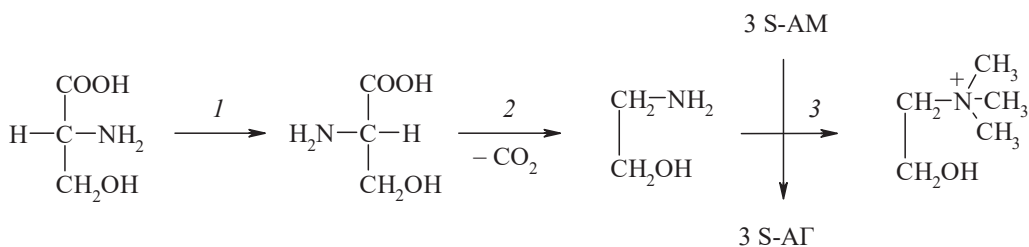
- а) пептидная;
- б) фосфоангидридная;
- в) фосфодиэфирная;
- г) гликозидная;
- д) водородная.

8. Какие процессы в биосинтезе белка происходят на этапе транскрипции:

- а) сборка рибосом и синтез полипептидной цепи;
- б) синтез и созревание мРНК;
- в) взаимодействие тРНК с аминокислотой;
- г) присоединение небелкового компонента к полипептидной цепи;
- д) ничего из перечисленного.

9. Вставьте пропущенные слова (3 ответа) в предложение: «Мочевая кислота – конечный продукт распада ... нуклеотидов, ... растворима в воде и может образовывать ... в почках».

10. Напишите названия и номера классов ферментов (6 ответов), катализирующих реакции 1, 2 и 3:



## Раздел 6

# РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА. БИОХИМИЯ КРОВИ

### 1.1. Регуляция метаболизма

Обмен веществ – единый процесс. Лишь в учебных целях метаболизм углеводов, белков, липидов можно рассматривать по отдельности. Объединяют (интегрируют) различные стороны метаболизма регуляторные системы: нервная, эндокринная, иммунная. Ведущая роль в регуляции метаболизма принадлежит эндокринной системе и биологически активным веществам – гормонам.

Наука, изучающая системы гормональной регуляции обмена веществ и физиологических функций организма, носит название *эндокринологии*. Она представляет собой как фундаментальную биологическую, так и клиническую дисциплину. Современная эндокринология оформилась как самостоятельная дисциплина около 100 лет назад. Сегодня это высокотехнологичная и бурно развивающаяся отрасль биологии, которая владеет полным комплексом морфологических, химических, биохимических и молекулярно-генетических методов исследования. Результатом этих исследований служит понимание физиологии и патологии желез внутренней секреции, раскрытие химической структуры и механизмов функционирования сотен биологически активных веществ, а также синтез лекарственных препаратов на их основе.

Изучая курс биохимии, мы уже неоднократно сталкивались с разнообразными молекулами, обладающими регуляторными свойствами и служащими для передачи информации в живых системах. Такие молекулы называют *информонами*, или сигнальными молекулами. Среди последних можно выделить группу, традиционно относимую по ряду их общих свойств к гормонам.

#### 6.1.1. Гормоны, определение понятия и свойства

*Гормоны* – биологически активные вещества, вырабатываемые специализированными эндокринными клетками, секретируемые в кровь или лимфу и оказывающие действие на строение и функции организма вне места своего образования. *Прогормон* – биологически неактивный предшественник гормона, превращающийся в гормон в результате каких-либо метаболических реакций.

Особенности действия гормонов:

1. *Синтез и секреция специализированными клетками.* Сегодня очевидно, что эндокринную систему составляют не только общеизвестные железы внутренней секреции, но и отдельные клетки, выделяющие в кровь сигнальные молекулы.

Такие клетки есть в составе органов желудочно-кишечного тракта, почек, печени, легких, сердца, жировой ткани и иммунной системы. Все эти клетки принято объединять в диффузную гормональную систему.

2. *Высокая биологическая активность.* Гормоны обладают чрезвычайно высокой биологической активностью и обнаруживаются в биологических жидкостях в микро-, нано- и пикомолярных концентрациях. По этой причине количественное определение гормонов в биологических жидкостях осуществляется высокочувствительными иммунохимическими методами (радиоиммунологическим, иммуноферментным, иммунохемилюминесцентным и др.).

3. *Специфичность действия.* Каждый гормон способен оказывать присущий лишь ему спектр биологических эффектов и лишь в тех клетках, которые обладают к нему специфическими рецепторами: *клетках-мишенях*. Клетки, лишенные рецепторов, нечувствительны к действию гормона, гормонорезистентны. Как правило у гормона имеются определенное главное и второстепенное действия. Например, глюкокортикоиды – стимуляторы глюконеогенеза, побочное действие – противовоспалительные вещества. Встречаются ситуации, когда несколько гормонов по некоторому своему действию однонаправленны, например, кортизол, адреналин, глюкагон повышают уровень сахара крови, но различаются по другим эффектам, что и обуславливает неповторимую характеристику каждого из них.

4. *Дистантность действия.* Условием отнесения вещества к гормонам является оказание биологического действия вдали от места своего формирования и транспорт кровью или лимфой (*гемокринное действие*). Если вещество, секретируясь эндокринной клеткой, оказывает эффект, не только транспортируясь кровью, но и тканевой жидкостью, то говорят об *изокринном действии*. Так, получены данные о взаимном влиянии различных гормонов на соседние клетки одной эндокринной железы, например, взаимодействие между клетками островков Лангерганса, клетками аденогипофиза и коры надпочечников. Частный случай изокринного действия гормонов – нейрокринное действие либеринов и статинов гипоталамуса.

Вещества, не удовлетворяющие этому условию, могут считаться гормоноподобными веществами (гормоноидами, аутокоидами):

а) «клеточные гормоны» действуют на ту клетку, в которой образуются (*аутокринное действие*);

б) «тканевые гормоны» действуют на близлежащие клетки (*паракринное действие*), если гормон при этом не попадает в межклеточную жидкость, а передается через плазмолемму соседней клетки, говорят о *юкстакринном действии*.

5. *Регулируемость действия.* Гормональная регуляция предназначена для оптимального приспособления организма к условиям внешней среды, поэтому количество и спектр гормонов, находящихся в крови и действующих на клетки-мишени в данный момент, подвержены разнообразным влияниям и имеют биоритмы различной периодичности. Регуляция гормонального действия может осуществляться на всех этапах их метаболизма.

### 6.1.2. Классификации гормонов

В курсе биохимии наиболее удобной для нас является классификация гормонов *по химической природе*:

1. Белково-пептидные: олигопептиды (либерины и статины, АКТГ, АДГ, окситоцин, глюкагон и др.), простые белки (инсулин, СТГ, ПРЛ), гликопротеины (ЛГ, ФСГ, ТТГ).

2. Производные аминокислот (катехоламины, тиреоидные гормоны, мелатонин).

3. Стероидные (глюкокортикоиды, минералокортикоиды, андрогены, эстрогены, гестагены).

Классификация по химической природе удачна не только тем, что позволяет однозначно отнести каждый гормон к определенной группе, но и тем, что химическая природа гормона предопределяет особенности его биологического действия (транспорт кровью, взаимодействие с рецепторами).

Кроме того, гормоны классифицируют:

– *по месту образования* (гормоны гипоталамуса, гипофиза, эпифиза, щитовидной, паращитовидных, поджелудочной и половых желез, надпочечников).

– *по физиологическим функциям* (регуляторы углеводного, белкового, липидного, водно-солевого, кальций-фосфорного обменов, репродуктивных функций и функций периферических эндокринных желез).

*По механизмам рецепции клетками-мишенями* различают гормоны:

– действующие на мембранные рецепторы (белковые, производные аминокислот);

– на внутриклеточные рецепторы (стероидные);

– на оба типа рецепторов (тиреоидные).

#### **Принципы организации нейроэндокринной системы**

1. *Иерархичность*. В эндокринной системе существуют несколько уровней регуляции:

а) кора больших полушарий головного мозга;

б) подкорковые структуры;

в) гипоталамус;

г) гипофиз;

д) периферические эндокринные железы;

е) клетки-мишени (рецепторы и пострецепторные механизмы передачи сигнала).

Современная эндокринология предполагает наличие в организме трех взаимодействующих регуляторных систем: нервной, эндокринной и иммунной. Взаимодействие нервной, эндокринной и иммунной систем можно представить схемой (рис. 29).

Согласно этой схеме любая клетка-мишень (клетка-эффектор) подвержена влиянию регуляторных молекул каждой из трех систем.

2. *Каскадное усиление сигнала и наличие проводников действия гормона*: каждый последующий уровень в иерархии гормональной регуляции усиливает передаваемый сигнал благодаря увеличению продукции биологически активных веществ в геометрической прогрессии на следующем уровне иерархии.



Рис. 29. Взаимодействие нервной, эндокринной и иммунной систем в регуляции гомеостаза [см.: 3, с. 219]

3. *Саморегуляция по принципу положительной прямой и отрицательной обратной связи.* Гипоталамус стимулирует секрецию тропных гормонов гипофиза, которые, в свою очередь, стимулируют секрецию гормонов периферическими эндокринными железами – положительные прямые связи. Гормоны периферических эндокринных желез тормозят секрецию тропных гормонов гипофиза и либеринов гипоталамуса – отрицательная обратная связь.

### 6.1.3. Этапы метаболизма гормонов

#### 1. Биосинтез и хранение.

Белковые гормоны синтезируются на полирибосомах сначала в виде пре-, про- и прогормонов, которые депонируются в эндокринной клетке. Гормоны – производные аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана) – синтезируются с помощью специфических ферментных систем. Предшественником синтеза стероидных гормонов служит холестерин, в дальнейших превращениях которого участвуют ферменты микросомального окисления мембран гладкой эндоплазматической сети.

#### 2. Активация и секреция.

Каждая эндокринная клетка имеет определенный запас гормона в везикулах аппарата Гольджи (секреторных гранулах), по мере поступления регуляторных стимулов происходит экзоцитоз и выход гормонов в кровь. Поступление гормона в кровь в этом случае осуществляется импульсно, что отражается в существовании биоритмов гормональной секреции различной периодичности. Реже гормоны



поступают в кровоток путем простой диффузии. В этом случае скорость их секреции определяется интенсивностью кровотока в железе.

### 3. Транспорт кровью.

Транспорт гормонов кровью осуществляется либо в свободном виде (растворимые белки), либо в связанном с белками или форменными элементами (стероидные и тиреоидные). Различают специфические (тироксинсвязывающий глобулин, транскортин, белок, связывающий половые стероиды) и неспецифические (альбумин и преальбумин) связывающие белки крови. Активность последних существенно ниже. Фракция свободного гормона крови обычно не превышает 1 % от общего количества, но именно она является биологически активной. Между свободной и связанной фракциями гормонов устанавливается динамическое равновесие. Биологическое значение связывания гормона в крови заключается в предохранении его от разрушения протеазами, дозировании гормонального эффекта (буферная функция белка) и депонировании гормонов.

### 4. Рецепция и биологический эффект.

Характеристика типов рецепторов и пострецепторных механизмов подробно дана ниже.

При всем многообразии *физиологических эффектов* у гормонов принято выделять следующие группы:

- а) метаболические: влияние на процессы обмена веществ;
- б) морфогенетические (формативные): стимуляция деления клеток, роста и дифференцировки тканей и органов;
- в) кинетические (пусковые): вызывающее определенную деятельность эффекторов, например, тропных гормонов аденогипофиза;
- г) корригирующие: изменяющие интенсивность физиологических процессов, которые могут осуществляться и без гормона.

### 5. Инактивация и выведение.

Ни один гормон не действует бесконечно долго, существуют системы их инактивации, которые представлены ферментными системами печени (микросомальное окисление и конъюгация с ФАФС, УДФГК, глицином). Печень выделяет метаболиты гормонов в желчь для дальнейшей экскреции с калом и кровью, откуда они экскретируются почками с мочой. Пептидные гормоны могут разрушаться в почках при помощи протеаз (например, инсулиназа) на отдельные аминокислоты. Не более 10 % циркулирующих гормонов выводятся из организма в неизмененном виде. Основной путь выведения гормонов и их метаболитов – с мочой и калом, менее значимая экскреция – с потом, слюной, молоком.

## 6.1.4. Рецепторы и механизм действия гормонов

Рецептор – макромолекула, способная специфически взаимодействовать с ограниченным набором биологически активных веществ и трансформировать сигнал об этом взаимодействии в специфический клеточный ответ.

По химическому строению все известные рецепторы являются белками с молекулярной массой в сотни кДа. Обязательным компонентом рецептора является

трансмембранный проникающий белок, имеющий 1, 4 или 7 таких «петель». Практически все рецепторы образуют четвертичную структуру с мембранными фосфолипидами, углеводами, ионами металлов.

Взаимодействие гормона с рецептором происходит по принципу структурной комплементарности и напоминает взаимодействие фермента с субстратом с образованием гормон-рецепторного комплекса. В этом процессе играют роль различные функциональные группы аминокислот (COOH, NH<sub>2</sub>, SH, OH, имидазольные кольца гистидина), однако рецепторы отличаются большим сродством (аффинностью) к гормонам, чем ферменты к субстратам. Вслед за связыванием гормона с распознающим доменом рецептора происходит конформационная перестройка его эффекторного домена, обеспечивающая активацию пострецепторных путей реализации гормонального сигнала. Количественной мерой аффинности рецептора служит константа диссоциации гормон-рецепторного комплекса. Структура и свойства рецепторов генетически детерминированы, но количество их в клетке может изменяться.

Основные свойства рецепторных систем проведения и усиления сигнала:

1. Высокая чувствительность рецепторов за счет механизмов каскадного усиления сигнала.

2. Наличие «резерва» рецепторов – максимальный клеточный ответ может наблюдаться и при незначительном числе связанных с гормоном рецепторов. В физиологических условиях количество рецепторов к различным гормонам колеблется от 500 до 30 000 на одну клетку-мишень, причем во взаимодействии с гормоном находится не более 5 % от их количества.

3. Адаптация рецепторов к меняющейся концентрации гормона в микроокружении: *снижающая (down)* и *повышающая (up)* регуляция под действием гормона. Адаптацией к сниженной концентрации гормона является эффект *кластеризации* рецепторов – собирание их в одном месте, повышение плотности на единицу площади мембраны. Активность гормон-рецепторного взаимодействия зависит также и от микроокружения рецептора в мембране и ее вязкости.

Зачастую для проявления или усиления биологического эффекта гормона необходима химическая модификация его на уровне клетки-мишени (превращение тироксина в трийодтиронин, тестостерона – в 5- $\alpha$ -дигидротестостерон).

Вторичные мессенджеры – внутриклеточные молекулы, осуществляющие сопряжение рецепторов с внутриклеточными эффекторами (ферментами, ионными каналами, геномом).

Внутриклеточные системы передачи гормонального сигнала:

1. Система циклических нуклеотидов.
2. Система инозитолтрифосфата и диацилглицерола.
3. Система тирозинкиназы и тирозинфосфатазы.
4. Система кальция.
5. Система эйкозаноидов.

## 6.2. Биохимия крови

Значение биохимических исследований для современной медицинской практики трудно переоценить. Они используются для постановки диагноза, контроля эффективности лечения и выявления побочных эффектов терапии, мониторинга концентрации лекарственных препаратов. В повседневной работе врача постоянно возникает необходимость сравнения результатов биохимических исследований с величинами, принятыми за норму. В современной медицине чаще используют термин «референсные интервалы» лабораторных показателей. Это подчеркивает, что норма – понятие статистическое: в пределы нормы (референсного интервала) должны укладываться значения данного показателя у 95 % здоровых лиц из популяции, только 5 % здоровых будут иметь значения показателя вне указанного диапазона). Далеко не каждое изменение лабораторного показателя указывает на болезнь. Для лабораторных показателей характерны 3 вида вариации (изменчивости со временем): биологическая (связана с изменениями показателя у здоровых лиц в течение суток, сезонов года и т. п.), аналитическая (связана с погрешностями процедуры анализа) и патологическая (связана с влиянием болезни).

Этапы лабораторного исследования:

1) преаналитический (включает подготовку пациента, процедуру забора, доставку в лабораторию и подготовку пробы к анализу – отделение плазмы и т. п.). Именно на этом этапе совершается основное количество ошибок, искажающих результат анализа;

2) собственно анализ;

3) интерпретация полученных результатов врачом.

Материал для биохимических исследований: кровь и ее фракции (95 % случаев), моча, слюна, слеза, желудочный сок, дуоденальное содержимое, желчь, кал, сперма, выпоты (транссудаты) и воспалительные экссудаты из серозных полостей и т. п. Также возможно определение ряда веществ в ногтях, волосах, биопсийном материале.

Необходимо помнить, что концентрация любого соединения в крови определяется двумя противоположными процессами: поступлением в кровь из клеток организма или извне и выведением из нее всеми возможными путями. В табл. 10 суммированы данные о важнейших показателях биохимического анализа крови, применяемых в медицинской практике.

Автоматические биохимические анализаторы – неотъемлемая составная часть современной клинической биохимической лаборатории. Традиционный (ручной) метод анализа базируется на непосредственном участии лаборанта на всех этапах процесса: взятии биологического материала, наборе и смешивании реактивов, инкубации, регистрации результатов измерений и расчете концентрации определяемого вещества. При этом даже незначительные отклонения в условиях выполнения анализа, неизбежно возникающие при обработке большого количества проб, способны существенно исказить конечный результат анализа.

Автоматизация большинства этапов процесса приводит к стандартизации всей процедуры анализа, делает выполнение исследования более быстрым и точным,

## Некоторые биохимические показатели крови

Показатель	Референсный интервал для плазмы (сыворотки) крови	Диагностическое значение	
		Повышение	Понижение
Глюкоза	3,3–6,1 ммоль/л	У здоровых лиц наблюдается после еды. В патологии – при сахарном диабете, гиперпродукции контринсулярных гормонов	У здоровых лиц наблюдается при голодании, изнурительной физической работе. В патологии – при избытке инсулина и дефиците контринсулярных гормонов, недостаточности функции печени и почек
Холестерин	3,5–5,0 ммоль/л	У здоровых лиц зависит от характера питания. Повышение концентрации холестерина – один из факторов риска атеросклероза. Может наблюдаться при патологии печени, почек, гипотиреозе	При гипертиреозе, тяжелой печеночной недостаточности
Триглицериды	До 1,7 ммоль/л	У здоровых лиц зависит от характера питания. Гипертриглицеридемия – один из факторов риска атеросклероза	Неизвестно
Мочевина	2,5–8,3 ммоль/л	При избытке белка в питании или усиленном распаде собственных белков. Чаще всего – признак снижения азотвыделительной функции почек (почечной недостаточности)	Физиологично при беременности. Характерно для тяжелой печеночной недостаточности
Креатинин	60–100 мкмоль/л	Показатель зависит от мышечной массы. В патологии – главный лабораторный параметр оценки азотвыделительной функции почек, повышается при почечной недостаточности	Неизвестно
Билирубин	5–20,5 мкмоль/л	Физиологично для новорожденных на 1-й неделе жизни. В патологии связано с избыточным разрушением гема (гемолиз эритроцитов), нарушением утилизации билирубина печенью или препятствием для оттока желчи в кишечник	Неизвестно

Показатель	Референсный интервал для плазмы (сыворотки) крови	Диагностическое значение	
		Повышение	Понижение
Общий белок	65–85 г/л в сыворотке крови, 67–89 г/л в плазме крови	Характерно для гемоконцентрации (сгущение крови вследствие обезвоживания). Иногда наблюдается при воспалении или связано с продукцией аномальных белков опухолями кроветворной ткани (миеломная болезнь)	Закономерно при голодании. При патологии связано с интенсивным катаболизмом белков (травмы, ожоги), потерей белка с мочой (нефротический синдром), нарушением переваривания белков и всасывания аминокислот
Мочевая кислота	220–380 мкмоль/л	Связано с избытком пуринов в питании. Наблюдается у предрасположенных лиц при подагре	Неизвестно

значительно снижает затраты реактивов и биологического материала. Управление работой биохимического автоматического анализатора осуществляется компьютером с соответствующим программным обеспечением. Выпускаемые промышленностью современные наборы реактивов для определения параметров биологических жидкостей человека адаптированы к использованию в автоматических анализаторах. Преимуществом анализатора является возможность определения в одной пробе биологической жидкости до 20–40 различных параметров (концентраций веществ, активности ферментов и т. д.). Современные автоматические биохимические анализаторы способны выполнять до 800 и более исследований в час, что позволяет в течение рабочего дня провести развернутый биохимический анализ крови нескольких сотен пациентов.

В основе работы биохимических анализаторов лежит метод фотоэлектроколориметрии. Фотоэлектроколориметрия (от греч. *photos* – свет, лат. *color* – цвет) – метод определения концентрации окрашенных растворов, основанный на законе светопоглощения Бугера – Ламберта – Бера:

$$E = \lg \frac{I}{I_0} = \varepsilon \times l \times c,$$

где  $E$  – оптическая плотность (экстинкция) раствора;  $I$  и  $I_0$  – интенсивность света, прошедшего через раствор и падающего на раствор соответственно;  $\varepsilon$  – коэффициент погашения;  $l$  – толщина слоя раствора, см;  $c$  – концентрация раствора, моль/л. Коэффициент погашения является коэффициентом пропорциональности и показывает, какая доля светового потока поглощается данным раствором толщиной 1 см.

Преобразовав данное уравнение, получим формулу

$$C = \frac{E}{\varepsilon \times l}.$$

Таким образом, измерив с помощью фотоэлектроколориметра величину оптической плотности раствора с известным коэффициентом погашения, помещенного в прозрачную кювету известной толщины, мы можем определить его концентрацию.

Принципиальная схема фотоэлектроколориметра включает несколько обязательных элементов (рис. 30).

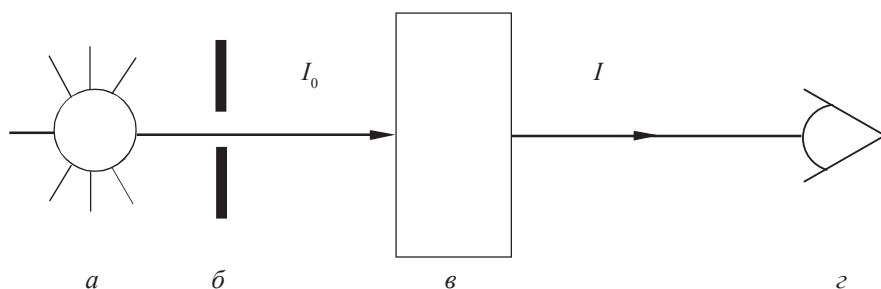


Рис. 30. Принципиальная схема фотоэлектроколориметра:

*a* – источник света – лампа накаливания или ультрафиолетовая лампа; *б* – светофильтр – стекло определенного цвета, пропускающего монохроматический свет; *в* – стеклянная кювета с исследуемым раствором; *г* – фотоэлемент для регистрации интенсивности светового потока, прошедшего через раствор

Для определения  $I_0$  в данном случае используется раствор сравнения, концентрация определяемого вещества в котором равна нулю. Для перевода единиц оптической плотности (экстинкции) в единицы концентрации проводят измерение экстинкций серии контрольных растворов с известной концентрацией вещества и последующее построение калибровочной кривой.

Далеко не всегда раствор интересующего нас вещества имеет собственную окраску. В этом случае в основу метода измерения берется какая-либо цветная реакция на данное вещество, при этом концентрация продукта реакции прямо пропорциональна концентрации исследуемого вещества и определяется фотоэлектродетектически.

### Вопросы для проверки усвоения материала

1. Регуляция метаболизма. Гормоны: понятие, свойства, биологическая роль.
2. Этапы метаболизма гормонов. Рецепторы гормонов.
3. Значение биохимических исследований для медицинской практики. Референтные интервалы лабораторных показателей. Подготовка крови к биохимическому исследованию. Отличие плазмы и сыворотки крови.

4. Показатели крови, характеризующие углеводный обмен: глюкоза, лактат, пируват.

5. Показатели крови, характеризующие липидный обмен: холестерин, триглицериды, липопротеиды, кетоновые тела.

6. Азотистые вещества плазмы крови: белки и остаточный азот, состав, происхождение, биологическое значение.

7. Минеральные вещества крови (ионы калия, натрия, кальция, магния, хлорида, бикарбоната, фосфата).

### **Письменное домашнее задание**

1. В тетради зарисовать принципиальную схему фотоэлектроколориметра, описать принцип его работы.

2. Указать основные преимущества автоматизированных методов биохимических исследований перед ручными.

### **Типовой вариант тестового контроля по теме «Регуляция метаболизма. Биохимия крови»**

**Инструкция:** при отсутствии дополнительных указаний в вопросе теста выберите один верный вариант ответа.

1. Как влияют гормоны инсулин и адреналин на концентрацию глюкозы в крови:

- а) инсулин – увеличивает, адреналин – уменьшает;
- б) инсулин – уменьшает, адреналин – увеличивает;
- в) инсулин и адреналин увеличивают;
- г) инсулин и адреналин уменьшают.

2. Выберите изменение липидного спектра плазмы крови, увеличивающее риск атеросклероза:

- а) снижение концентрации общего холестерина;
- б) снижение концентрации триглицеридов;
- в) повышение концентрации холестерина ЛПНП;
- г) повышение концентрации холестерина ЛПВП.

3. Укажите главную фракцию белков плазмы крови:

- а) альбумины;
- б)  $\alpha_1$ -глобулины;
- в)  $\alpha_2$ -глобулины;
- г)  $\beta$ -глобулины;
- д)  $\gamma$ -глобулины.

4. Выберите правильное соотношение между концентрациями катионов в клетках и в плазме крови:

а) в плазме крови выше концентрация калия и магния, в клетках – натрия и кальция;

б) в плазме крови выше концентрация натрия и магния, в клетках – калия и кальция;

в) в плазме крови выше концентрация натрия и калия, в клетках – магния и кальция;

г) в плазме крови выше концентрация натрия и кальция, в клетках – калия и магния.

5. Какой параметр отличается у клеток и макромолекул, эффективно разделяющихся методом центрифугирования:

а) заряд;

б) плотность;

в) химическая природа;

г) поглощение света;

д) преломление света.

6. Какой метод позволяет разделить белки плазмы крови на фракции в зависимости от соотношения заряда и молекулярной массы:

а) спектрофотометрия;

б) электрофорез;

в) хроматография;

г) центрифугирование;

д) флуориметрия.

7. Укажите основной компонент остаточного азота плазмы крови:

а) мочевины;

б) мочевины кислоты;

в) креатин;

г) креатинин;

д) аминокислоты.

8. Причиной повышения активности фермента в плазме крови может быть:

а) увеличение синтеза фермента в клетках;

б) повышение проницаемости мембран клеток;

в) разрушение мембран клеток;

г) все перечисленное.

9. Активность каких ферментов в крови чаще всего исследуют в биохимических лабораториях для диагностики заболеваний человека:

а) фосфолипаза, амилаза, пепсин;

б) цитратсинтаза, сукцинатдегидрогеназа, аконитаза;

в) гексокиназа, фосфофруктокиназа, альдолаза;

г) креатинкиназа, лактатдегидрогеназа, аланинаминотрансфераза;

д) нуклеотидаза, ксантиноксидаза, уриказа.



10. Вставьте пропущенные слова (3 ответа) в предложение: «Билирубин является конечным продуктом распада ..., присутствует в крови в виде прямой и ... фракций, при повышении концентрации его более 40 мкмоль/л возникает ...»

11. Какие патологические характеристики имеет приведенный биохимический анализ крови (3 ответа):

Показатель, единица измерения	Значение
Глюкоза, ммоль/л	12,6
Холестерин, ммоль/л	4,8
Триглицериды, ммоль/л	3,5
Мочевина, ммоль/л	5,5
Креатинин, мкмоль/л	78
Мочевая кислота, мкмоль/л	495
Билирубин, мкмоль/л	12
Калий, ммоль/л	4,0
Натрий, ммоль/л	138

- а) гипергликемия;
- б) гипохолестеринемия;
- в) гипертриглицеридемия;
- г) гипоазотемия;
- д) гиперурикемия;
- е) гипобилирубинемия;
- ж) гиперкалиемия;
- з) гипонатриемия.

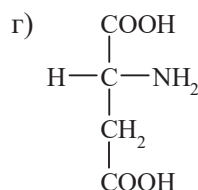
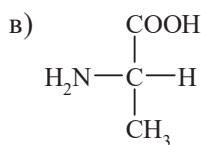
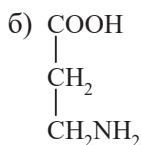
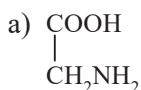
## Раздел 7

# ИТОГОВОЕ КОНТРОЛЬНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ. ВОПРОСЫ К ЭКЗАМЕНУ ПО КУРСУ БИОХИМИИ

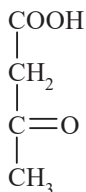
### Типовой вариант итогового тестового контроля

**Инструкция:** при отсутствии дополнительных указаний в вопросе теста выберите один верный вариант ответа.

1. Из приведенных структурных формул выберите формулу *L*-аминокислоты:



2. Укажите название по систематической номенклатуре ацетоуксусной кислоты:



а) 2-оксобутановая;

б) 3-оксобутановая;

в) 2-бутадиеновая;

г) 3-бутандиовая.

3. Как называется способ укладки полипептидной цепи в пространстве, стабилизированный водородными связями:

- а) первичная структура;
- б) вторичная структура;
- в) третичная структура;
- г) четвертичная структура.

4. Выберите свойство ферментов, отличающее их от небиологических катализаторов:

- а) ферменты одинаково ускоряют прямую и обратную реакции;
- б) концентрация фермента во много раз меньше концентрации субстрата реакции;
- в) действие фермента регулируется активаторами и ингибиторами;
- г) фермент не расходуется в процессе реакции.

5. Что такое кофермент:

- а) белковая часть молекулы фермента, состоящая из аминокислот;
- б) небелковая часть молекулы фермента, часто – производное витаминов;
- в) ингибитор, присоединяющийся к активному центру фермента;
- г) активатор, присоединяющийся к аллостерическому центру фермента.

6. Назовите класс ферментов, катализирующих реакции переноса групп от одного соединения к другому:

- а) оксидоредуктазы;
- б) трансферазы;
- в) изомеразы;
- г) лигазы.

7. Укажите клеточные органеллы, в которых протекают реакции гидролиза белков, полисахаридов и липидов:

- а) рибосомы;
- б) лизосомы;
- в) митохондрии;
- г) эндоплазматическая сеть.

8. Какие процессы относят к первому (подготовительному) этапу биологического окисления:

- а) гидролиз питательных веществ до мономеров;
- б) гликолиз,  $\beta$ -окисление жирных кислот, деаминирование аминокислот;
- в) цикл Кребса и реакции субстратного фосфорилирования;
- г) тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование.

9. Как изменяются процессы в митохондрии при разобщении тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования:

- а) синтез АТФ увеличивается, потребление кислорода уменьшается;
- б) синтез АТФ уменьшается, потребление кислорода увеличивается;
- в) синтез АТФ и потребление кислорода уменьшаются;
- г) синтез АТФ и потребление кислорода увеличиваются.

10. Укажите биологическую роль пути использования кислорода с пластическими целями (микросомального окисления):

- а) запасание энергии в форме макроэргических связей АТФ;
- б) обезвреживание ядов и синтез некоторых веществ;
- в) окисление макромолекул свободными радикалами кислорода;
- г) обезвреживание свободных радикалов кислорода антиоксидантными ферментами.

11. Из приведенного перечня выберите резервный полисахарид животных клеток:

- а) крахмал;
- б) гликоген;
- в) целлюлоза;
- г) пектин.

12. Укажите продукты анаэробного окисления 1 моля глюкозы:

- а) 2 моля молочной кислоты, 2 моля АТФ;
- б) 2 моля пировиноградной кислоты, 2 моля АТФ;
- в) 38 молей молочной кислоты, 38 молей АТФ;
- г) 38 молей пировиноградной кислоты, 38 молей АТФ.

13. Как влияет на активность ферментов гликолиза и глюконеогенеза длительное отсутствие углеводов в питании:

- а) ферменты гликолиза активируются, глюконеогенеза ингибируются;
- б) ферменты гликолиза ингибируются, глюконеогенеза активируются;
- в) ферменты гликолиза и глюконеогенеза ингибируются;
- г) ферменты гликолиза и глюконеогенеза активируются.

14. Из приведенного перечня выберите классы липидов, входящих в состав биологических мембран:

- а) жирные кислоты и триглицериды;
- б) триглицериды и фосфолипиды;
- в) фосфолипиды и свободный холестерин;
- г) холестерин и его эфиры.

15. Изменяется ли температура плавления триглицеридов с увеличением длины углеводородного радикала жирных кислот в их составе:

- а) да, увеличивается;
- б) да, уменьшается;
- в) нет, не изменяется;
- г) закономерность не изучена.

16. Сколько циклов  $\beta$ -окисления необходимо для полного катаболизма олеиновой кислоты  $C_{17}H_{33}COOH$ :

- а) 8;
- б) 9;
- в) 17;
- г) 18.

17. Укажите продукты реакции декарбоксилирования аминокислот:

- а) аминокислота и вода;
- б) амин и  $CO_2$ ;
- в) аминокислота и кетокислота;
- г) кетокислота и аммиак.

18. Какие аминокислоты называют кетогенными:

- а) содержащие кетогруппу;
- б) синтезирующиеся из кетоновых тел;
- в) превращающиеся в ацетилкоэнзим А и кетоновые тела;
- г) превращающиеся в кислоты цикла Кребса.

19. Укажите последовательность нуклеотидов мРНК, полученную при транскрипции участка молекулы ДНК ААГЦТ:

- а) УУЦГА;
- б) ГГУАЦ;
- в) ТТЦГА;
- г) ЦЦАГУ.

20. Выберите вещество, циркулирующее в крови и выделяющееся из организма с мочой как продукт распада пуриновых нуклеотидов:

- а) аммиак;
- б) мочевины;
- в) мочевины кислоты;
- г) креатинин.

21. Какую химическую природу имеют гормоны кортизол, эстрадиол и тестостерон:

- а) белки;
- б) гликопротеины;
- в) производные аминокислот;
- г) стероиды.

22. Как влияют гормоны инсулин и адреналин на концентрацию глюкозы в крови:

- а) инсулин – увеличивает, адреналин – уменьшает;
- б) инсулин – уменьшает, адреналин – увеличивает;
- в) инсулин и адреналин увеличивают;
- г) инсулин и адреналин уменьшают.

# ВОПРОСЫ К ЭКЗАМЕНУ ПО БИОХИМИИ

## **Статическая биохимия: строение и функции биомолекул**

1. Химический состав живых систем. Классификация химических элементов по распространенности в живых системах. Биологическое значение воды и неорганических соединений.

2. Классификация органических соединений на основе строения углеродного скелета и наличия функциональных групп. Понятие о гетероциклических соединениях, важнейшие представители, биологическое значение.

3. Карбоновые кислоты: классификация, строение, стереоизомерия и биологическое значение важнейших представителей. Взаимопревращение насыщенных, ненасыщенных, гидрокси- и оксокислот. Качественные реакции на молочную и пировиноградную кислоты.

4. Аминокислоты: определение, общий план строения, стереоизомерия. Классификация аминокислот по строению и свойствам бокового радикала, качественные реакции различных представителей.

5. Аминокислоты: реакция поликонденсации, строение пептидной связи. Качественная реакция на пептидную связь. Первичная структура белка, биологическое значение.

6. Вторичная и третичная структуры белка: типы связей, стабилизирующих структуру, особенности строения глобулярных и фибриллярных белков. Структурные белки живых систем (коллаген, кератин, фиброин).

7. Простые и сложные белки, основные группы сложных белков. Четвертичная структура белка: пространственное строение, типы связей, стабилизирующих структуру. Функциональные особенности олигомерных белков (на примере гемоглобина).

8. Кислотно-основные свойства аминокислот, пептидов и белков, понятие об изоэлектрической точке, биологическое значение.

9. Белки плазмы крови: происхождение, основные фракции, биологическое значение.

10. Моносахариды: классификация по химической структуре, строение и биологическое значение важнейших представителей. Виды изомерии моносахаридов, взаимодействие изомеров (на примере глюкозы, рибозы или фруктозы), биологическое значение.

11. Важнейшие химические свойства моносахаридов (реакции окисления, восстановления, образования гликозидов и фосфорных эфиров), биологическое значение. Качественные реакции на глюкозу и фруктозу.

12. Олигосахариды: понятие, классификация по числу мономерных звеньев и восстанавливающей способности. Строение и биологическое значение важнейших дисахаридов.

13. Полисахариды: классификация, строение и биологическое значение важнейших представителей. Качественная реакция на крахмал.

14. Липиды: определение, классификация. Понятие о строении и биологической роли неомыляемых липидов. Краткая характеристика жирорастворимых витаминов.

15. Жирные кислоты: определение, строение, физико-химические свойства и биологическое значение важнейших представителей. Качественная реакция на ненасыщенные жирные кислоты.

16. Триглицериды: строение, связь между строением и физико-химическими свойствами, биологическое значение. Важнейшие химические реакции триглицеридов: гидрирование, омыление, галогенирование.

17. Фосфолипиды: классификация, строение, связь между строением и физико-химическими свойствами. Роль фосфолипидов в формировании биологических мембран и липопротеинов крови.

18. Липопротеины крови: план строения, понятие о составе и функциях основных классов.

19. Строение и функции биологических мембран: роль липидных, белковых и углеводных компонентов.

20. Способы транспорта веществ через биологические мембраны. Роль мембран в поддержании ионного гомеостаза клетки и внеклеточной среды.

21. Азотистые основания, нуклеозиды и нуклеотиды: классификация, план строения, биологическое значение. Производные нуклеотидов – биологически активные вещества.

22. РНК: виды, строение, пространственная конфигурация, типы химических связей в молекуле, локализация в клетке, биологическое значение.

23. ДНК: строение, пространственная конфигурация, типы химических связей в молекуле, локализация в клетке, биологическое значение.

## **Динамическая биохимия: метаболизм. Энзимология и биологическое окисление**

24. Метаболизм: определение, составляющие, свойства. Компартментализация метаболизма на уровне клетки – метаболические функции различных клеточных органелл.

25. Интеграция и регуляция метаболизма. Уровни регуляции метаболизма: внутриклеточный, межклеточный, центральный. Единство нервной, эндокринной и иммунной систем в регуляции метаболизма.

26. Гормоны: определение, свойства, классификация по химической природе. Краткая характеристика стероидных гормонов.

27. Гормоны: мембранный и внутриклеточный типы действия на клетки-мишени, сравнительная характеристика. Механизм мембранного действия на примере аденилатциклазной системы.

28. Ферменты: определение, сравнительная характеристика ферментов и небиологических катализаторов.

29. Ферменты: определение, строение. Коферменты и кофакторы, химическая природа и функции.

30. Витамины и витаминоподобные вещества: определение, классификация, биологическое значение. Коферментная функция витаминов на примере ферментов цикла Кребса.

31. Механизм ферментативного катализа: теории Фишера, Кошланда, промежуточных соединений. Сущность ферментативного катализа с позиций термодинамики.

32. Международная классификация и номенклатура ферментов: принцип построения, классы и шифры ферментов. Характеристика и правила составления названий ферментов каждого класса (примеры из реакций цикла Кребса, гликолиза, глюконеогенеза,  $\beta$ -окисления жирных кислот и обмена аминокислот).

33. Ферменты: зависимость скорости ферментативной реакции от температуры, pH, концентрации фермента и субстрата. Уравнения Михаэлиса – Ментен и Лайнуивера – Берка.

34. Виды регуляции активности ферментов. Сравнительная характеристика конкурентного и аллостерического механизмов регуляции, примеры, биологическое значение.

35. Виды регуляции активности ферментов. Регуляция активности ферментов путем ковалентной модификации и индукции-репрессии, примеры, биологическое значение.

36. Ферменты крови: происхождение, биологические функции, значение в лабораторной диагностике. Применение ферментов как аналитических реактивов.

37. Этапы извлечения энергии из питательных веществ: подготовительный, промежуточный обмен, митохондриальный. Макроэргические соединения клетки. Креатинфосфат: синтез, распад, биологическое значение.

38. АТФ: строение, пути образования и использования в клетке. Сравнительная характеристика окислительного и субстратного фосфорилирования. Реакции субстратного фосфорилирования в гликолизе и цикле Кребса.

39. Цикл Кребса: локализация в клетке, реакции, ферменты, биологическое значение.

40. Цикл Кребса: регуляция, энергетический баланс, биологическое значение. Связь цикла Кребса с обменом углеводов, липидов и белков.

41. Коферменты биологического окисления ( $\text{НАД}^+$ ,  $\text{НАДФ}^+$ , ФАД, аскорбиновая и липоевая кислоты, убихинон, гем): понятие о строении, биологическое значение. Энергетическая эффективность окисления  $\text{НАД}^+$ - и ФАД-зависимых субстратов в дыхательной цепи.



42. Ферментные системы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования: понятие о строении, действие в условиях сопряжения и разобщения, биологическое значение. Хемиосмотическая теория П. Митчелла.

43. Понятие о ксенобиотиках, биологическая роль. Этапы метаболизма липофильных ксенобиотиков: реакции окисления и конъюгации. Этанол: схема и энергетический баланс окисления до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

44. Микросомальное окисление: сущность и биологическое значение моно- и диоксигеназных реакций. Роль монооксигеназных реакций в метаболизме ксенобиотиков (на примере бензола).

45. Пути использования кислорода в реакциях биологического окисления. Свободнорадикальный путь использования кислорода в клетке: сущность и биологическое значение.

46. Антиоксидантная защита клетки: ферментативное и неферментативное звенья, роль витаминов и микроэлементов, биологическое значение.

### **Динамическая биохимия:**

#### **Обмен углеводов, липидов, белков и нуклеиновых кислот.**

#### **Биохимические исследования в медицине**

47. Обмен углеводов в клетке: гликолиз, локализация в клетке, реакции, ферменты, биологическое значение.

48. Обмен углеводов в клетке: гликолиз аэробный и анаэробный, регуляция, энергетический баланс, биологическое значение. Брожение: понятие, сходство с гликолизом и отличие от него.

49. Обмен углеводов в клетке: схема обмена глюкозо-6-фосфата. Понятие о пентозофосфатном пути, синтезе и распаде гликогена, биологическое значение.

50. Обмен углеводов в клетке: схема обмена пировиноградной кислоты. Реакции обмена молочной кислоты в различных тканях. Энергетический баланс окисления молочной кислоты до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Цикл Кори, биологическое значение.

51. Обмен углеводов в клетке: глюконеогенез, реакции, субстраты, ферменты, регуляция, биологическое значение.

52. Роль гормонов и нервной системы в регуляции углеводного обмена. Биохимические показатели крови, характеризующие состояние углеводного обмена.

53. Обмен липидов в клетке:  $\beta$ -окисление жирных кислот, этапы, локализация в клетке, реакции, ферменты, биологическое значение.

54. Обмен липидов в клетке:  $\beta$ -окисление жирных кислот, энергетический баланс (на примере окисления линоленовой кислоты). Сравнительная характеристика углеводов и липидов как источников энергии в клетке.

55. Обмен липидов в клетке: схема обмена ацетилкоэнзима А, понятие о синтезе жирных кислот, сравнительная характеристика синтеза и  $\beta$ -окисления, биологическое значение. Незаменимые жирные кислоты: строение и биологическое значение.

56. Обмен липидов в клетке: понятие о синтезе и распаде триглицеридов, условия, биологическое значение. Энергетический баланс окисления глицерина до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

57. Обмен липидов в клетке: схема обмена ацетилкоэнзима А, понятие о синтезе холестерина, пути его поступления и использования в организме, биологическое значение.

58. Обмен липидов в клетке: схема обмена ацетилкоэнзима А, строение кетонových тел, понятие об их синтезе и распаде, биологическое значение. Энергетический баланс окисления  $\beta$ -гидроксимасляной кислоты до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Качественная реакция на кетонowe тела.

59. Роль гормонов и нервной системы в регуляции липидного обмена. Биохимические показатели крови, характеризующие состояние липидного обмена.

60. Обмен аминокислот в клетке: реакции декарбоксилирования, ферменты, биологическое значение. Использование аминокислот для синтеза биологически активных веществ (на примере адреналина или ацетилхолина).

61. Обмен аминокислот в клетке: реакции переаминирования, ферменты, биологическое значение. Судьба безазотистого остатка аминокислот. Кетогенные и глюкогенные аминокислоты.

62. Обмен аминокислот в клетке: понятие о заменимых, незаменимых, частично и условно заменимых аминокислотах. Реакции синтеза заменимых аминокислот (на примере ГЛУ, ГЛН, АСП, АЛА). Связь обмена аминокислот с обменом углеводов и липидов.

63. Обмен аминокислот в клетке: реакции прямого и непрямого дезаминирования, ферменты, биологическое значение. Образование аммиака, его токсичность и пути обезвреживания.

64. Обмен аминокислот в клетке: цикл мочевинообразования, локализация в организме, реакции, ферменты, биологическое значение, связь с реакциями дезаминирования и циклом Кребса.

65. Биосинтез белка: краткая характеристика основных этапов. Посттрансляционная модификация и фолдинг белков.

66. Протеолиз: виды, ферменты, биологическое значение. Особенности катаболизма белка в лизосомах и протеасомах. Пути использования фонда аминокислот в клетке.

67. Обмен нуклеиновых кислот: биологическое значение нуклеотидов, понятие о синтезе и распаде нуклеотидов, реакции образования конечных продуктов обмена.

68. Роль гормонов в регуляции белкового обмена. Азотистый баланс. Источники полноценного пищевого белка. Конечные продукты азотистого обмена у человека.

69. Биохимические показатели крови, характеризующие состояние белкового обмена. Остаточный азот плазмы крови и его компоненты.

70. Кровь как объект биохимического исследования. Отличия плазмы и сыворотки крови. Минеральные вещества крови, особенности распределения между плазмой и клетками, биологическая роль.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. *Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф.* Биологическая химия. М. : Медицина, 2008.
2. Биологическая химия : учебник / В. К. Кухта, Т. С. Морозкина, Э. И. Олецкий, А. Д. Таганов. Минск : Асар ; М. : БИНОМ, 2008.
3. Иммунофизиология / В. А. Черешнев, Б. Г. Юшков, В. Г. Климин, Е. В. Лебедева. Екатеринбург : УрО РАН, 2002.

## СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

### О с н о в н а я

*Нельсон Д.* Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. / Д. Нельсон, М. Кокс ; пер. с англ. – М. : БИНОМ ; Лаборатория знаний. – 2011. – Т. 1. – 694 с. ; – 2014. – Т. 2. – 636 с. ; – 2015. – Т. 3. – 448 с.

Основы биоорганической химии : учеб. пособие / Н. Н. Мочульская Н. Е. Максимова, В. В. Емельянов. – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2015. – 108 с.

Основы биохимии для инженеров : учеб. пособие / Ю. А. Ершов, Н. И. Зайцева ; под ред. С. И. Щукина. – М. : Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2010. – 359 с.

### Д о п о л н и т е л ь н а я

*Березов Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – М. : Медицина, 2008. – 704 с.

Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / под ред. чл.-корр. РАМН С. Е. Северина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 624 с.

Биологическая химия : учебник / В. К. Кухта, Т. С. Морозкина, Э. И. Олецкий, А. Д. Таганович ; под ред. А. Д. Тагановича. – Минск : Асар ; М. : Изд-во БИНОМ, 2008. – 688 с.

Биохимия человека : в 2 т. / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл. – М. : Изд-во «Мир» ; БИНОМ ; Лаборатория знаний, 2009. – Т. 1. – 384 с. ; – Т. 2. – 415 с.

*Камышников В. С.* Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ, 2009. – 896 с.

*Кольман Я.* Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рём ; пер. с нем. 4-е изд. – М. : БИНОМ ; Лаборатория знаний, 2011. – 472 с.

*Маршалл В. Дж.* Клиническая биохимия / В. Дж. Маршалл, С. К. Бангерт ; пер. с англ. 6-е изд. перераб. и доп. – М. ; СПб. : Изд-во БИНОМ ; «Диалект», 2011. – 408 с.

Учебное издание

Емельянов Виктор Владимирович  
Максимова Надежда Евгеньевна  
Мочульская Наталия Николаевна

# БИОХИМИЯ

Учебное пособие

Заведующий редакцией *М. А. Овечкина*  
Редактор *В. И. Попова*  
Корректор *В. И. Попова*  
Компьютерная верстка *Г. Б. Головина*

План изданий 2016 г. Подписано в печать 29.12.16  
Формат 70×100/16. Бумага офсетная. Гарнитура Times  
Уч.-изд. л. 8,5. Усл. печ. л. 10,64. Тираж 100 экз. Заказ 371

Издательство Уральского университета  
620000, Екатеринбург, ул. Тургенева, 4

Отпечатано в Издательско-полиграфическом центре УрФУ  
620000, Екатеринбург, ул. Тургенева, 4  
Тел.: + (343) 350-56-64, 350-90-13  
Факс +7 (343) 358-93-06  
E-mail: [press-urfu@mail.ru](mailto:press-urfu@mail.ru)



**Емельянов Виктор Владимирович**

Кандидат медицинских наук, доцент кафедры иммунохимии, доцент кафедры медицинской биохимии и биофизики Уральского федерального университета. Сфера научных интересов – биохимия сахарного диабета, разработка новых противодиабетических средств.



**Максимова Надежда Евгеньевна**

Кандидат химических наук, старший научный сотрудник, доцент кафедры иммунохимии Уральского федерального университета. Сфера научных интересов – биохимия продуктов питания, разработка новых иммунохимических методов анализа.



**Мочульская Наталия Николаевна**

Кандидат химических наук, доцент кафедры иммунохимии Уральского федерального университета. Сфера научных интересов – химия гетероциклов, разработка методов синтеза и иммунохимического анализа антибактериальных препаратов.